

VARIACIÓN ISOENZIMÁTICA EN MAÍCES NATIVOS DE LA REGIÓN LLANOS DE SERDÁN, PUEBLA*

ISOENZYMATIC VARIATION OF MAIZE LANDRACES FROM THE REGION LLANOS DE SERDÁN, PUEBLA

René Hortelano Santa Rosa¹, Amalio Santacruz Varela^{2§}, Abel Gil Muñoz³, Higinio López Sánchez³, Pedro Antonio López³ y Salvador Miranda Colín²

¹Campo Experimental Valle de México. INIFAP. Carretera Los Reyes-Textcoco, km 13.5. Coatlinchán, Textcoco, Estado de México. C. P. 56250. Tel. 01 595 9212657. Ext. 152. (hortelano.rene@inifap.gob.mx). ²Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. Carretera México-Textcoco, km 36.5. Montecillo, Textcoco, Estado de México. C. P. 56230. Tel. 01 595 95 20200. Ext. 1570 y 1551. (smiranda@colpos.mx). ³Campus Puebla. Colegio de Postgraduados. Carretera Federal México-Puebla, km 125.5. Puebla, México. C. P. 72760. Tel. 01 222 2851447. Ext. 2061, 2207 y 2029. (gila@colpos.mx), (higiniols@colpos.mx), (palopez@colpos.mx). [§]Autor para correspondencia: asvarela@colpos.mx.

RESUMEN

Con la finalidad de explorar la variación isoenzimática, el grado de diferenciación genética y las relaciones filogenéticas de poblaciones nativas de maíz (*Zea mays* L. ssp. *mays*) de la región Llanos de Serdán del estado de Puebla, se estudiaron 51 colectas provenientes de 10 municipios del Distrito de Desarrollo Rural de Libres y seis testigos representantes de las razas Cónico, Cónico Norteño, Palomero Toluqueño y Chalqueño. Se examinaron diez sistemas enzimáticos que codifican para 18 loci de enzimas, donde se detectaron 52 alelos. Con base en las frecuencias alélicas se estimaron parámetros de diversidad genética, encontrándose que el conjunto de poblaciones nativas presentó 98% del total de alelos, con nueve exclusivos, con promedio de 2.83 alelos por locus, 88.9% de loci polimórficos y una heterocigosidad esperada de 0.27. Se encontró moderada diferenciación genética (0.085), indicando que sólo 8.5% de la variación se presentó entre grupos y 91.5% dentro de los grupos. Las poblaciones nativas presentaron mayor similitud genética con la raza Chalqueño, aunque están divergiendo de la misma, posiblemente por efectos de la selección practicada por los agricultores de la zona.

ABSTRACT

In order to explore the isoenzymatic variation, the degree of genetic differentiation and phylogenetic relationships of native populations of maize (*Zea mays* L. spp. *mays*) of the Llanos de Serdán region, Puebla, we studied 51 collections from 10 municipalities in Libres' Rural Development District and six controls, representatives of Cónico, Cónico Norteño, Palomero Toluqueño and Chalqueño races. Ten enzyme systems encoding for 18 loci were examined, where 52 alleles were detected. Based on allele frequencies, the genetic diversity parameters were estimated, finding that the entire native population presented 98% of the total alleles, with nine exclusives, with an average of 2.83 alleles per locus, 88.9% of polymorphic loci and expected heterozygosity 0.27. Moderate genetic differentiation (0.085) was found, indicating that only 8.5% of the variation was between groups and 91.5% within the groups. The native populations had a higher genetic similarity with Chalqueño race, although they are diverging from it, possibly because of the selection practiced by farmers in the area.

Key words: *Zea mays* L., biochemical, genetic resources, germplasm.

* Recibido: enero de 2011
Aceptado: octubre de 2011

Palabras clave: *Zea mays* L., germoplasma, marcadores bioquímicos, recursos fitogenéticos.

INTRODUCCIÓN

México es un centro de origen, domesticación y diversidad del maíz (*Zea mays* L. ssp. *mays*) (Kato, 1984; Kato *et al.*, 2010); aquí se encuentran alrededor de 59 razas, las cuales representan 30% de las reportadas para el continente americano (Sánchez *et al.*, 2000a). Se ha realizado una gama considerable de estudios tendientes a cuantificar la diversidad de este cultivo, ya sea a nivel nacional (Doebley *et al.*, 1985; Sánchez *et al.*, 2000a) o regional (Mijangos *et al.*, 2007; Hortelano *et al.*, 2008; López *et al.*, 2009), recurriendo a caracterizaciones morfológicas y/o isoenzimáticas.

Los marcadores bioquímicos, como las isoenzimas, han sido ampliamente usados debido a su polimorfismo, codominancia, herencia simple y a que los estudios correspondientes son rápidos y relativamente económicos (Bretting y Widrlechner, 1995). Con estos marcadores es factible determinar las frecuencias alélicas, usando éstas para evaluar la diversidad y para calcular las distancias genéticas e inferir relaciones filogenéticas o sistemáticas entre las poblaciones o razas estudiadas (Doebley *et al.*, 1988).

López *et al.* (2009) señalaron que en México, aún falta por explorar con mayor detalle la variación genética dentro de razas de maíz a nivel de regiones específicas, como es el caso del Distrito de Desarrollo Rural de Libres (DDR 04); que comprende a Llanos de Serdán y constituye la principal zona productora, contribuyendo con 41% de la producción de maíz del estado de Puebla (SIAP, 2010) y que en él se emplean predominantemente maíces nativos, cultivados 90% bajo condiciones de temporal (INEGI, 2002).

A pesar de su importancia, al momento no se cuenta con estudios que permitan conocer la variabilidad de las poblaciones nativas allí cultivadas a nivel de marcadores genéticos, lo que condujo a realizar la presente investigación, planteando como objetivos evaluar el grado de variabilidad isoenzimática de los maíces nativos de los Llanos de Serdán del estado de Puebla, determinar el grado de diferenciación genética de las poblaciones y estudiar las relaciones que presentan éstas con las razas reportadas para la región.

INTRODUCTION

Mexico is a center of origin, domestication and diversity of maize (*Zea mays* L. ssp. *mays*) (Kato, 1984, Kato *et al.*, 2010); around 59 races are found in here, representing 30% of those reported for the American Continent (Sánchez *et al.*, 2000a). There has been a considerable range of studies to quantify the diversity of this crop, either nationally (Doebley *et al.*, 1985; Sánchez *et al.*, 2000a) or regional (Mijangos *et al.*, 2007; Hortelano *et al.*, 2008; López *et al.*, 2009), using morphological characterizations and isoenzymatic.

Biochemical markers such as isoenzymes have been widely used because of its polymorphism, codominance, simple inheritance, and the related studies are quick and relatively cheap (Bretting and Widrlechner, 1995). With these markers is feasible to determine the allelic frequencies, using these to assess the diversity and to calculate genetic distances and to infer phylogenetic or systematic relationships between the populations or breeds under study (Doebley *et al.*, 1988).

López *et al.* (2009) noted that, in Mexico is needed to explore with greater detail the genetic variation within races of maize at the level of specific regions, such as Libre's Rural Development District (DDR 04), which comprises Llanos de Serdán and is the main producing area, contributing 41% of the maize production in the State of Puebla (SIAP, 2010) and that it is used predominantly native maize, 90% cultivated under rainfed conditions (INEGI, 2002).

Despite its importance, there are no studies that reveal the variability of native populations grown there at the level of genetic markers so far, leading to perform this research, the raising objectives are to evaluate the degree of the isoenzymatic variability of native maize, in Llanos de Serdán, Puebla State, to determine the degree of the populations' genetic differentiation and, to study the relationships with the races reported for the region.

MATERIALS AND METHODS

Genetic material

51 native populations collected in 10 municipalities in the region of Llanos de Serdán (Table 1), located in east-central portion of Libre's Rural Development District, Puebla (DDR-04), bounded

MATERIALES Y MÉTODOS

Material genético

Se analizaron 51 poblaciones nativas colectadas en 10 municipios de la región de los Llanos de Serdán (Cuadro 1), ubicada en la porción centro-oriente del Distrito de Desarrollo Rural de Libres, Puebla (DDR-04), quedando delimitada por los paralelos 18° 38' 44" y 19° 41' 10" latitud norte y los meridianos 96° 59' 30" y 98° 01' 34" longitud oeste, en altitudes que van de 2 340 a 2 980 m. El grupo examinado se definió tomando las poblaciones más representativas de un estudio previo de caracterización morfológica, de 134 poblaciones de la región de referencia (Hortelano, 2010).

by the 18° 38' 44" and 19° 41' 10" parallels, north latitude and the meridians 96° 59' 30" and 98° 01' 34" west longitude, elevation ranging from 2 340-2 980 m The group was defined in representative populations of a previous morphological study of 134 people in the region of reference (Hortelano, 2010).

Native populations were selected located in the five groups formed with the morphological analysis, trying to include the range of colors and backgrounds of the grain for each group. Group I was composed of 47 populations; 87.2% of them are creamy, late compared to the other groups and with large corn cob's diameter and longer grains. Group II integrated of 19 populations, 84.2% of them late creamy grain, but with greater plant height and cob, larger corn cobs and even more kernels per row than the last one.

Cuadro 1. Municipios de procedencia de las poblaciones nativas de maíz evaluadas con isoenzimas y subgrupos formados con base en caracteres morfológicos.

Table 1. Municipalities of origin of native maize populations assessed with isoenzymes and subgroups based on morphological characteristics.

Municipio	Latitud norte	Longitud oeste	Altitud (m)	Grupo y número de accesión†
Aljojuca	19° 05'	97° 31'	2 480	I (4), II (7, 45), IV (25)
Chalchicomula de S.	18° 55'	97° 24'	2 540	I (5, 9, 11), II (21, 39)
Esperanza	18° 52'	97° 26'	2 410	IV (40)
Guadalupe Victoria	19° 20'	97° 27'	2 415	I (10), IV (33)
La Fragua	19° 13'	97° 20'	2 700	I (3, 14, 16), III (31, 36)
San Juan Atenco	19° 05'	97° 32'	2 440	I (43), II (18), III (30), IV (29, 30, 32)
S. N. Buenos Aires	19° 12'	97° 31'	2 380	I (19), V (51)
S. Salvador El Seco	19° 04'	97° 36'	2 420	IV (34, 24)
Tepeyahualco	19° 25'	97° 26'	2 340	III (22, 41, 42), IV (23, 28)
Tlachichuca	19° 06'	97° 25'	2 600	I (1, 2, 13, 15, 17), II (8, 20, 44, 47, 48) III (12, 46), IV (6, 26, 27, 37, 38), V (49, 50)

Fuente: INEGI (2002). †= el número arábigo es el número de colecta y el número romano es el grupo al que pertenecen.

Se seleccionaron poblaciones nativas ubicadas en los cinco grupos formados con el análisis morfológico, procurando incluir la gama de coloraciones de grano y procedencias en cada grupo. El Grupo I se integró por 47 poblaciones; 87.2% de ellas de grano color crema, tardías respecto a los otros grupos y con mayor diámetro de mazorca y longitud de grano. El Grupo II estuvo compuesto por 19 poblaciones, 84.2% de ellas de grano cremoso tardío, pero con mayor altura de planta y mazorca, mayor longitud de mazorca y más granos por hilera que el anterior.

The Group III had 34 materials, 17 of creamy grains and 17 with pigmented grains (blue, black and yellow), earlier than before. The Group IV with 28 populations, with a predominance of pigmented grains (68%), particularly of yellow grains with corn cobs of low diameter. The Group V included six populations, all cream-colored, early, short plant height and ear, lower diameter of the ear, but with wider grains.

El Grupo III tuvo 34 materiales, 17 de grano cremoso y 17 de grano pigmentado (azul, negro y amarillo), más precoz que los anteriores. Al Grupo IV pertenecieron 28

For the isoenzymatic analysis, representative populations of races Cónico (Criollo del Mezquital), Cónico Norteño (Zac-58), Chalqueño, with its variants Chalqueño (Mex-158), Chalqueño Crema (7CSM) and Chalqueño Palomo (Col. 6538) and, Palomero Toluqueño (Mex-5) were additionally included.

poblaciones; predominando las de grano pigmentado (68%), particularmente las de grano amarillo con mazorcas que fueron de bajo diámetro. El Grupo V incluyó a seis poblaciones, todas de color cremoso, precoz, poca altura de planta y mazorca, menor diámetro de mazorca, pero con los granos más anchos.

Para el análisis isoenzimático se incluyeron adicionalmente poblaciones representativas de las razas Cónico (Criollo del Mezquital), Cónico Norteño (Zac-58), Chalqueño, en sus variantes Chalqueño (Mex-158), Chalqueño Crema (7CSM) y Chalqueño Palomo (Col. 6538) y Palomero Toluqueño (Mex-5).

Análisis isoenzimático

Se obtuvo extracto enzimático de 10 individuos de cada población estudiada siguiendo los protocolos de Stuber *et al.* (1988), incluyendo además las líneas B73 y Mo24W, empleadas como referencia en virtud de contar con alelos y patrones de bandeo conocidos.

Se analizaron 10 sistemas enzimáticos que codifican para 18 loci, incluyendo las enzimas β -glucosidasa (*Glu1*), malato deshidrogenasa (*Mdh1*, 2, 3, 4 y 5), fosfatasa ácida (*Acp1*), alcohol deshidrogenasa (*Adh1*), catalasa (*Cat3*), glutamato oxaloacetato transaminasa (*Got1*, 2 y 3), esterasa (*Est8*), isocitrato deshidrogenasa (*Idh1*, *Idh2*), fosfato isomerasa (*Phi1*) y fosfoglucomutasa (*Pgm1* y *Pgm2*), todas ellas localizadas en ocho de los diez cromosomas del maíz.

Las enzimas fueron separadas mediante electroforesis en geles de almidón y su desplazamiento fue revelado con tinciones específicas para cada enzima de acuerdo con los protocolos citados. Los zimogramas se fotografiaron para realizar la lectura de las bandas.

Análisis estadístico

A partir de la lectura de los zimogramas por población e individuo, se calculó el número de alelos por locus y el promedio de alelos por locus, y se estimaron parámetros de diversidad genética tales como las frecuencias alélicas, el porcentaje de loci polimórficos, considerando como polimórficos aquellos donde la frecuencia del alelo más frecuente no fuera superior a 95% (Brown y Weir, 1983), y la heterocigosidad esperada o diversidad genética de las poblaciones, calculada como $He = 1 - \sum_{i=1}^m x_i^2$, donde x_i es la frecuencia en la población del i ésimo alelo en un locus y m es el número de alelos (Nei, 1973).

Isoenzymatic analysis

Enzyme extract was obtained from 10 individuals of each population studied following the protocols of Stuber *et al.* (1988), also including B73 and Mo24W lines, used as reference for having known alleles and banding patterns.

Ten enzyme systems were analyzed encoding for 18 loci, including enzymes β -glucosidase (*Glu1*), malate dehydrogenase (*Mdh1*, 2, 3, 4 and 5), acid phosphatase (*ACPI*), alcohol dehydrogenase (*Adh1*), catalase (*Cat3*), glutamate oxaloacetate transaminase (*Got1*, 2 and 3), esterase (*Est8*), isocitrate dehydrogenase (*Idh1*, *Idh2*), phosphate isomerase (*Phi1*) and phosphoglucomutase (*Pgm1* and *Pgm2*), all of them located in eight out of the ten chromosomes of maize.

The enzymes were separated by electrophoresis in starch gels and its displacement was revealed with a specific staining for each enzyme according to the described protocols. The zymograms were photographed for reading the bands.

Statistical analysis

After reading the zymograms by population and individual, the number of alleles per locus and average alleles per locus was calculated, and genetic diversity parameters were estimated, such as allele frequencies, the percentage of polymorphic loci, considering as polymorphic, those where the frequency of the most common allele did not exceed 95% (Brown and Weir, 1983) and expected heterozygosity or genetic diversity of populations, calculated as: $He = 1 - \sum_{i=1}^m x_i^2$, where: x_i = frequency in the population of the i -th allele at a locus; m = number of alleles (Nei, 1973).

Besides this, for each locus the relative genetic differentiation of populations was estimated (G_{ST}), calculated as: $G_{ST} = 1 - \frac{H_S}{H_T}$; where: H_S = expected heterozygosity of individuals with respect to the subgroup to which they belong; H_T = value of expected heterozygosity with respect to the total of populations under study (Nei, 1973), all for each of the five groups and racial controls, using the program POPGENE version 1.31 (Yeh *et al.*, 1999).

From the allelic frequencies by groups of native populations and racial controls, a genetic distance matrix using NTSYS-pc package (Rohlf, 1993) was generated,

Adicionalmente, para cada locus se estimó la diferenciación genética relativa de las poblaciones (G_{ST}), calculada como $G_{ST} = 1 - \frac{H_S}{H_T}$, donde H_S es la heterocigosidad esperada de los individuos con respecto al subgrupo del que forman parte y H_T es el valor de la heterocigosidad esperada con respecto al total de poblaciones estudiadas (Nei, 1973), todo ello para cada uno de los cinco grupos de poblaciones y los testigos raciales, utilizando el programa POPGENE versión 1.31 (Yeh *et al.*, 1999).

A partir de las frecuencias alélicas por grupos de poblaciones nativas y testigos raciales, se generó una matriz de distancias genéticas mediante el paquete NTSYS-pc (Rohlf, 1993), utilizando la distancia modificada de Rogers, ya que ésta cumple con la propiedad de metricidad (Rogers, 1986). Con la matriz de distancias se obtuvo un filograma, mediante el método de agrupamiento de vecinos (Neighbor-Joining) (Saitou y Nei, 1987), utilizando a la población Palomero Toluqueño como grupo externo, por ser una raza Indígena Antigua y basal en el proceso evolutivo del maíz (Wellhausen *et al.*, 1951).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Número de alelos

Las poblaciones nativas presentaron un promedio de 2.83 alelos por locus, mientras que el grupo de testigos raciales tuvo 2 alelos por locus. El número promedio de alelos por grupo varió desde 2.05 hasta 2.61; en el caso de los testigos raciales, el intervalo fue de 1.2 en Palomero Toluqueño a 1.53 en Cónico Norteño y Chalqueño Crema (Cuadro 2). Se puede afirmar que los Grupos con un menor número de alelos tienen una menor diversidad genética (Liu, 1998); en el caso del Grupo V, ello puede atribuirse al menor número de poblaciones que lo integraron (tres) y al hecho de que todas ellas provienen de localidades relativamente cercanas, ubicadas en un radio no mayor a 23 km.

using Rogers' modified distance as it meets the property of metrics (Rogers, 1986). With the matrix of distances, a phylogenetic tree was obtained through the Neighbor-Joining method (Saitou and Nei, 1987), using Palomero Toluqueño population as a foreign group, since it is a basal indigenous old race in the evolutionary process of maize (Wellhausen *et al.*, 1951).

RESULTS AND DISCUSSION

Number of alleles

Native populations had an average of 2.83 alleles per locus, while the racial group of control had 2 alleles per locus. The average number of alleles per group ranged from 2.5 to 2.61; in the case of racial controls, the range was from 1.2 in Palomero Toluqueño to 1.53 in Cónico Norteño and Chalqueño Crema (Table 2). It can be assured that, the groups with a lower number of alleles have a lower genetic diversity (Liu, 1998); in the case of Group V, this can be attributed to the lower number of populations that integrated it (three) and the fact that all of them come from relatively nearby locations, within a radius of no more than 23 km.

In total 52 alleles were found, out of this 51 were present in the native population and 32 in the racial controls, 13 alleles were quite unique to the native populations. The native populations as a whole had 29.4% of alleles in common with Chalqueño and Palomero Toluqueño, 33.3% with Chalqueño Palomo, 37% with Cónico and 39.2% with Cónico Norteño and Chalqueño Crema (Table 3). The loci *Adh1*, *Pgm1*, *Mdh4* and *Got2* proved to be monomorphic, while those with a larger number of alleles were *Glu1* (7 alleles), *Est8* (5 alleles), *Acp1*, *Phi1* and *Pgm2* (4 alleles each).

Cuadro 2. Parámetros de diversidad genética en grupos de poblaciones nativas y testigos con base en 18 loci de isoenzimas.
Table 2. Parameters of genetic diversity in groups of native and control populations based on 18 loci of isoenzymes.

Grupo	NAL	HO	HE	LP (%)
I	2.61 ±1.334	0.128 ±0.172	0.234 ±0.235	83.3
II	2.38 ±1.195	0.126 ±0.166	0.234 ±0.235	77.7
III	2.44 ±1.338	0.134 ±0.198	0.24 ±0.251	72.2
IV	2.38 ±1.243	0.125 ±0.176	0.239 ±0.238	72.2
V	2.05 ±0.998	0.125 ±0.171	0.22 ±0.249	72.2
Media ± desviación estándar	2.83 ±1.504	0.128 ±0.172	0.239 ±0.24	88.9

NAL= número de alelos por locus; HO= heterocigosidad observada; HE= heterocigosidad esperada; LP= loci polimórficos (criterio de 95%).

Cuadro 2. Parámetros de diversidad genética en grupos de poblaciones nativas y testigos con base en 18 loci de isoenzimas (Continuación).**Table 2. Parameters of genetic diversity in groups of native and control populations based on 18 loci of isoenzymes. (Continuation).**

Grupo	NAL	HO	HE	LP (%)
Testigos raciales				
Cónico	1.46 ±0.639	0.133 ±0.222	0.126 ±0.189	33.3
Cónico Norteño	1.53 ±0.639	0.146 ±0.224	0.16 ±0.194	38.9
Chalqueño	1.28 ±0.468	0.021 ±0.042	0.081 ±0.151	22.2
Chalqueño Crema	1.53 ±0.516	0.14 ±0.247	0.176 ±0.196	44.4
Chalqueño Palomo	1.33 ±0.488	0.106 ±0.228	0.13 ±0.21	27.7
Palomero Toluqueño	1.2 ±0.414	0.046 ±0.135	0.078 ±0.176	16.6
Media ± desviación estándar	2 ±0.73	0.103 ±0.166	0.204 ±0.178	66.6

NAL= número de alelos por locus; HO= heterocigosidad observada; HE= heterocigosidad esperada; LP= loci polimórficos (criterio de 95%).

En total se encontraron 52 alelos, de éstos 51 estuvieron presentes en las poblaciones nativas y 32 en los testigos raciales; 13 alelos fueron exclusivos a las poblaciones nativas. Las poblaciones nativas en su conjunto presentaron 29.4% de alelos en común con Chalqueño y Palomero Toluqueño, 33.3% con Chalqueño Palomo, 37% con Cónico y 39.2% con Cónico Norteño y Chalqueño Crema (Cuadro 3). Los loci *Adh1*, *Pgm1*, *Mdh4* y *Got2* resultaron ser monomórficos, mientras que aquellos con mayor cantidad de alelos fueron *Glu1* (7 alelos), *Est8* (5 alelos), *Acp1*, *Phi1* y *Pgm2* (4 alelos cada uno).

The number of alleles found among the native maize of Llanos de Serdán, Puebla, it's similar to that reported for the race Zapalote Chico (2.42) and Maiz Grande (2.47) in the Isthmus of Tehuantepec, Oaxaca (López *et al.*, 2009) as well as for sweet corns (2.78) (Revilla and Tracy, 1995) and for the corn belt dent racial complex (2.67) (Smith, 1986), so it can be said that, the level of variation detected in this paper is comparable to other regional studies performed with populations of the same race, in which the existence of genetic diversity has been detected.

Cuadro 3. Frecuencias génicas en cinco grupos de poblaciones nativas y seis testigos con base en 46 alelos codificados por 14 loci de isoenzimas.**Table 3. Gene frequencies in five groups of native populations and six controls based on 46 alleles encoded by 14 loci of isoenzymes.**

Locus/alelo	Grupos de poblaciones nativas					Media nativas	Media testigos [†]	Global
	I	II	III	IV	V			
<i>Glu1-1</i>	0.004	0	0	0	0	0.001	0	0.001
<i>Glu1-2</i>	0.383	0.397	0.378	0.417	0.191	0.383	0.75	0.392
<i>Glu1-2.5</i>	0	0.016	0	0	0.191	0.013	0	0.013
<i>Glu1-6</i>	0.121	0.064	0.147	0.132	0.191	0.124	0	0.121
<i>Glu1-7</i>	0.278	0.373	0.212	0.26	0.333	0.278	0	0.271
<i>Glu1-9</i>	0.19	0.151	0.218	0.177	0.095	0.18	0.25	0.182
<i>Glu1-10</i>	0.024	0	0.045	0.015	0	0.021	0	0.02
<i>Mdh1-1</i>	0.072	0.069	0.045	0.086	0.05	0.069	0.033	0.065
<i>Mdh1-6</i>	0.928	0.931	0.955	0.914	0.95	0.931	0.967	0.935
<i>Mdh2-3</i>	0.022	0.05	0.015	0.014	0.017	0.023	0.692	0.093
<i>Mdh2-3.5</i>	0.578	0.613	0.55	0.557	0.6	0.574	0.167	0.531
<i>Mdh2-6</i>	0.4	0.338	0.435	0.429	0.383	0.404	0.142	0.376
<i>Mdh3-16</i>	0.981	0.975	0.995	0.957	0.983	0.977	1	0.979

[†]= incluye las razas Cónico, Cónico Norteño, Chalqueño, Chalqueño Crema, Chalqueño Palomo y Palomero Toluqueño; vi= valor indeterminado en locus y grupos específicos.

Cuadro 3. Frecuencias génicas en cinco grupos de poblaciones nativas y seis testigos con base en 46 alelos codificados por 14 loci de isoenzimas (Continuación).**Table 3. Gene frequencies in five groups of native populations and six controls based on 46 alleles encoded by 14 loci of isoenzymes (Continuation).**

Locus/alelo	Grupos de poblaciones nativas					Media nativas	Media testigos [†]	Global
	I	II	III	IV	V			
<i>Mdh3-18</i>	0.019	0.025	0.005	0.043	0.017	0.024	0	0.021
<i>Mdh5-12</i>	0.369	0.463	0.45	0.421	0.133	0.4	0.908	0.454
<i>Mdh5-15</i>	0.631	0.538	0.55	0.579	0.867	0.6	0.092	0.547
<i>Acp1-2</i>	0.75	0.694	0.695	0.7	0.467	0.7	0.592	0.689
<i>Acp1-3</i>	0.094	0.075	0.075	0.068	0.3	0.092	0.017	0.084
<i>Acp1-4</i>	0.147	0.231	0.23	0.232	0.233	0.205	0.392	0.225
<i>Acp1-6</i>	0.009	0	0	0	0	0.003	0	0.003
<i>Cat3-7</i>	0	0.014	0.022	0	0.037	0.009	0.033	0.012
<i>Cat3-9</i>	1	0.986	0.978	1	0.963	0.991	0.883	0.979
<i>Cat3-12</i>	0	0	0	0	0	0	0.083	0.01
<i>Est8-6</i>	0.033	0.038	0.02	0.015	0	0.024	0	0.021
<i>Est8-8</i>	0	0.013	0.015	0	0	0.005	0	0.005
<i>Idh1-2</i>	0.003	0.019	0.01	0	0	0.006	0.97	0.092
<i>Idh1-4</i>	0.894	0.919	0.91	0.936	0.933	0.915	0.03	0.836
<i>Idh1-6</i>	0.103	0.063	0.08	0.064	0.067	0.079	0	0.072
<i>Idh2-4</i>	0.616	0.488	0.505	0.518	0.4	0.534	0.74	0.553
<i>Idh2-4.2</i>	0	0	0	0.007	0	0.002	0.26	0.025
<i>Idh2-6</i>	0.384	0.513	0.495	0.475	0.6	0.464	0	0.422
<i>Phi1-2</i>	0.025	0.038	0.01	0.004	0.017	0.018	0.017	0.018
<i>Phi1-3</i>	0.022	0	0.03	0.071	0	0.032	0.767	0.11
<i>Phi1-4</i>	0.941	0.95	0.95	0.904	0.983	0.936	0.217	0.861
<i>Phi1-5</i>	0.013	0.013	0.01	0.021	0	0.014	0	0.012
<i>Pgm2-3</i>	0.047	0.094	0.04	0.014	0.1	0.047	vi	0.047
<i>Pgm2-4</i>	0.822	0.794	0.78	0.829	0.683	0.803	vi	0.803
<i>Pgm2-8</i>	0.122	0.113	0.17	0.15	0.217	0.143	vi	0.143
<i>Pgm2-12</i>	0.009	0	0.01	0.007	0	0.007	vi	0.007

[†]= incluye las razas Cónico, Cónico Norteño, Chalqueño, Chalqueño Crema, Chaqueño Palomo y Palomero Toluqueño; vi= valor indeterminado en locus y grupos específicos.

El número de alelos encontrado entre los maíces nativos de los Llanos de Serdán, Puebla; es similar al reportado para la raza Zapalote Chico (2.42) y Maíz Grande (2.47) en el Istmo de Tehuantepec, Oaxaca (López *et al.*, 2009); así como para maíces dulces (2.78) (Revilla y Tracy, 1995) y para el complejo racial dentado de la Faja Maicera (2.67) (Smith, 1986), por lo que puede decirse que el nivel de variación detectado en este trabajo es comparable al de otros estudios regionales o los realizados con poblaciones de una misma raza, en los cuales se ha detectado la existencia de diversidad genética.

Percentage of polymorphic loci

Using the criterion proposed by Brown and Weir (1983), to consider a locus as polymorphic when the most frequent occurrence of the allele does not exceed 95%, it's observe that the Groups II to V showed 72.2% of polymorphic loci, and that Group I had the highest value with 83.3% (Table 2), which is related to the fact that, the group had the highest average number of alleles per locus and that the populations that integrated this group were from origins quite different.

Porcentaje de loci polimórficos

Utilizando el criterio propuesto por Brown y Weir (1983) de considerar un locus como polimórfico cuando la ocurrencia del alelo más frecuente no supera 95%, se observa que los Grupos II a V presentaron 72.2% de loci polimórficos, y que el Grupo I tuvo el valor más alto con 83.3% (Cuadro 2), lo cual se relaciona al hecho de que dicho grupo presentó el mayor número de alelos promedio por locus y que las poblaciones que formaron este agrupamiento fueron de procedencia muy diversa.

Crossa *et al.* (1993) han argumentado que el polimorfismo es un factor primordial para explicar la evolución, ya que la presencia de variantes alternativas permite que las especies puedan responder mejor a los retos del medio en el que viven; en consecuencia, poblaciones (o conjuntos de estas) con mayor polimorfismo tendrán mayor diversidad genética, mejor capacidad de adaptación al ambiente y, por tanto de evolución.

En conjunto las poblaciones nativas presentaron un promedio 88.9% de loci polimórficos, mientras que los testigos raciales alcanzaron un promedio 66.6%. Estos resultados son semejantes a los encontrados en poblaciones nativas de maíz del Valle de Puebla (Hortelano, 2006), donde el promedio de polimorfismo fue 76.5%, y a los encontrados en el Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, por López *et al.* (2009), que fueron 58 y 74% para Zapalote Chico y Maíz Grande, respectivamente; incluso, son comparables con los reportados a nivel de raza por Sánchez *et al.* (2000b) quienes reportaron un promedio 74% de loci polimórficos en 300 razas de las Américas, y Bretting *et al.* (1990) un valor 72% en razas de Guatemala.

En este contexto, se infiere que las poblaciones nativas de maíz estudiadas, tienen grados de polimorfismo isoenzimático comparable con maíces de otras zonas de nuestro país o regiones del Centro y Sudamérica, donde el maíz es un cultivo muy arraigado.

Heterocigosidad esperada

La heterocigosidad esperada (H_s) se refiere a la fracción estimada de individuos que serían heterocigotos para un locus elegido al azar, y es una predicción basada en la frecuencia de alelos conocidos de una muestra de individuos de una determinada población, de grupos de poblaciones o del total de poblaciones en general, después de una supuesta

Crossa *et al.* (1993) have noted that, the polymorphism is a major factor for explaining the evolution, since the presence of alternative variants allows the species to respond better to the challenges of the environment in which they live; and therefore, populations (or groups of these) with higher polymorphism will have a greater genetic diversity, better adaptability to the environment and therefore a higher level of evolution.

As a whole the native populations had an average 88.9% of polymorphic loci, while racial controls had an average of 66.6%. These results are quite similar to those found in native maize populations in the Valley of Puebla (Hortelano, 2006), where the average of polymorphism was 76.5%, and with those found in the Isthmus of Tehuantepec, Oaxaca, by López *et al.* (2009), with 58 and 74% for Zapalote Chico and Maíz Grande, respectively; even comparable with those reported at race level by Sánchez *et al.* (2000b) who reported an average 74% of polymorphic loci in 300 races of the Americas, and Bretting *et al.* (1990) with 72% in races of Guatemala.

In this context, it's concluded that, the native maize populations studied, have degrees of isozyme polymorphism comparable to maize from other areas of our country or regions of Central and South America, where maize is a deeply rooted culture.

Expected heterozygosity

The expected heterozygosity (H_s) refers to the estimated fraction of individuals that would be heterozygous for a locus chosen at random, and it's a prediction based on the known allele frequencies in a sample of individuals of a given population, from groups of populations or the total of populations in general, after a supposedly generation of random crossing (Nei, 1987), so that a higher level of heterozygosity will involve allogamous species with a greater genetic diversity.

Data in Table 2 show that, the native populations had an average value of 0.239 H_s , and within these, the Group V presented the lowest value (0.22) and Group III the highest (0.24), the other groups had intermediate values to those already mentioned. Racial controls invariably presented lower values of H_s than native populations, from 0.078 in Palomero Toluqueño to 0.176 in Chalqueño Crema (Table 2) with a grouped average of 0.204.

generación de apareamiento aleatorio (Nei, 1987), de tal forma que un mayor nivel de heterocigosidad implicará a especies alógamas mayor diversidad genética.

Los datos del Cuadro 2 evidencian que las poblaciones nativas tuvieron un valor promedio H_s de 0.239, y que dentro de éstas, fue el Grupo V el que presentó el valor más bajo (0.22) y el Grupo III el más alto (0.24); los demás grupos presentaron valores intermedios a los ya mencionados. Los testigos raciales invariablemente presentaron valores más bajos de H_s que las poblaciones nativas, desde 0.078 en Palomero Toluqueño hasta 0.176 en Chalqueño Crema (Cuadro 2), con un promedio grupal de 0.204.

Comparando los resultados con otros trabajos donde se analizó el mismo grupo de loci de isoenzimas, se observa que los valores de heterocigosidad esperada encontrados son semejantes a los encontrados en las poblaciones del Valle de Puebla (Hortelano, 2006), con $H_s = 0.216$ de H_s , o las encontradas en el Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, con H_s de 0.224 (López *et al.*, 2009) o en maíces de Guatemala, H_s de 0.266 (Bretting *et al.*, 1990).

Los valores también se aproximan a los reportados en estudios con diferentes razas, como el de Sánchez *et al.* (2000a), quienes reportan valores de H_s de 0.269, y el de Sánchez *et al.* (2000b) quienes consignan valores de 0.189 en 300 razas de las Américas, o el de Goodman y Stuber (1983), quienes reportaron $H_s = 0.234$ en las razas de Bolivia. Estos resultados demuestran que las poblaciones nativas de maíz del centro-oriente del estado de Puebla presentan diversidad genética comparable, o aun mayor que los maíces de otras regiones de México y Latinoamérica.

Frecuencias génicas

La comparación de las frecuencias génicas entre los cinco grupos de poblaciones nativas, evidenció que en cinco loci (*Glu1*, *Acp1*, *Got3*, *Est8* e *Idh2*) se tuvieron los mayores contrastes (Cuadro 3); así, el grupo I presentó en forma exclusiva los alelos *Glu1-1*, *Acp1-6*, *Got3-2* y tuvo una mayor frecuencia de *Idh2-4* respecto a los demás grupos, donde la mayor frecuencia correspondió al alelo *Idh2-6*. El grupo II se distinguió por presentar el alelo *Glu1-2.5*, mientras que los Grupos II, III y V fueron los únicos con el alelo *Cat3-7*.

Isoenzimáticamente, los Grupos III y IV fueron muy semejantes entre sí, excepto porque el grupo III presentó los alelos *Cat3-7*, *Est8-8* e *Idh1-2* (no contenidos en el Grupo

Comparing the results with other studies that analyzed the same set of loci in isoenzymes, it is observed that, the expected heterozygosity values found are similar to those found in populations from the Valley of Puebla (Hortelano, 2006), with $H_s = 0.216$, or with those found in the Isthmus of Tehuantepec, Oaxaca, $H_s = 0.224$ (López *et al.*, 2009) or in maize from Guatemala, $H_s = 0.266$ (Bretting *et al.*, 1990).

The values are also close to those reported in studies with different races, such as Sánchez *et al.* (2000a), who reported values of $H_s = 0.269$, and Sánchez *et al.* (2000b) who recorded values of 0.189 in 300 races of the Americas, or Goodman and Stuber (1983), who reported $H_s = 0.234$ in the races of Bolivia. These results demonstrate that, the native maize populations from the east-central of Puebla have a comparable genetic diversity, or even higher than the maize from other regions of Mexico and Latin America.

Gene frequencies

The comparison of gene frequencies between the five groups of native populations showed that five loci (*Glu1*, *Acp1*, *Got3*, *Est8* and *Idh2*) had the biggest contrasts (Table 3); so the Group I presented the alleles *Glu1-1*, *Acp1-6*, *Got3-2* and had a higher frequency of *Idh2-4* for the other groups, where the allele with the highest frequency was *Idh2-6*. The Group II was distinguished by allele *Glu1-2.5*, while Groups II, III and V were the only ones with *Cat3-7* allele.

Isoenzymatically, Groups III and IV were quite similar between each other, except that the Group III presented the alleles *Cat3-7*, *Est8-8* and *Idh1-2* (not contained in the Group IV) and Group IV had the allele *Idh2-4.2* (absent in Group III). The Group V showed relatively low frequencies in the alleles *Glu1-2*, *Mdh5-18* and *Acp1-2*, but had relatively high frequencies in the alleles *Idh2-6*, *Mdh5-15* and *Acp1-3*.

Doebly *et al.* (1986) mention that, allelic richness is indicative of adaptive and productive potential of a population, but also notes that very little is known about the effect that high frequencies of certain alleles of loci have on the phenotype of individuals. Also noting that, the genetic differences among populations are influenced by events such as genetic drift, the selection pressure associated with changes in the production's environment and reproductive isolation.

IV) y el grupo IV tuvo el alelo *Idh2-4.2* (ausente en el grupo III). El grupo V presentó frecuencias relativamente bajas en los alelos *Glu1-2*, *Mdh5-18* y *Acp1-2*, pero tuvo frecuencias relativamente altas en los alelos *Idh2-6*, *Mdh5-15* y *Acp1-3*.

Doebly *et al.* (1986) mencionan que la riqueza alélica es un indicativo del potencial adaptativo y productivo de una población, aunque también consiguieron que se conoce muy poco respecto al efecto que tienen las frecuencias altas de ciertos alelos de un loci en el fenotipo de los individuos. Argumentaron también que las diferencias genéticas entre poblaciones, están influenciadas por fenómenos tales como la deriva genética, la presión de selección asociada a cambios de ambiente de producción y el aislamiento reproductivo.

A nivel de grupos de poblaciones nativas se encontraron ocho alelos (15.4% del total) con frecuencia menor a 0.01. (Cuadro 3). Estos valores son semejantes a los encontrados por López *et al.* (2009) en materiales de Zapalote Chico y Maíz Grande (12 y 17%, respectivamente); por Revilla y Tracy (1995) en poblaciones de maíz dulce (22%), y por Santacruz *et al.* (2004) en maíces palomeros (5%).

Algunas de las frecuencias génicas encontradas para los grupos de poblaciones nativas coinciden con lo observado en otros estudios; por ejemplo, las frecuencias del alelo *Mdh2-6* y *Phi1-4* fueron muy parecidas a las reportadas por Llauro *et al.* (1993); Doebly *et al.* (1985, 1988); Santacruz *et al.* (2004); lo mismo ocurrió para los alelos *Got3-4*, *Idh2-6*, al comparar con lo reportado por Doebly *et al.* (1985); Doebly *et al.* (1988).

No obstante, también hubo diferencias, López *et al.* (2009) encontraron frecuencias más altas del alelo *Mdh2-3* que en este trabajo; lo mismo ocurrió para el alelo *Mdh5-15* al ser comparado con los resultados de Llauro *et al.* (1993); Doebly *et al.* (1985; 1988); Santacruz *et al.* (2004). En el caso del alelo *Got3-4*, López *et al.* (2009); Llauro *et al.* (1993); Doebly *et al.* (1988); Santacruz *et al.* (2004) encontraron fijación del mismo, situación que no ocurrió en este trabajo. Esta información ilustra la diferenciación que en frecuencias alélicas se esperaría encontrar entre poblaciones de maíz de diferentes países, regiones o microrregiones, situación que en lo general se atribuye a procesos como el manejo particular y selección del cultivo, migración, mutación y deriva genética (Pressoir y Berthaud, 2004).

En el caso de la región de estudio y debido a lo compacto de la misma, es difícil atribuir las diferencias en frecuencias génicas de isoenzimas entre grupos a factores como la

At the level of groups of native populations, eight alleles were found (15.4% of total) with frequency of less than 0.01 (Table 3). These values are similar to those found by López *et al.* (2009) in materials of Zapalote Chico and Maíz Grande (12 and 17% respectively); by Revilla and Tracy (1995) in sweet corn populations (22%), and Santacruz *et al.* (2004) in Palomero corn (5%).

Some of gene frequencies found for the native population groups coincide with those observed in other studies, such as the alleles *Mdh2-6* and *Phi1-4* frequencies, quite similar to those reported by Llauro *et al.* (1993); Doebly *et al.* (1985, 1988); Santacruz *et al.* (2004), the same happened to alleles *Got3-4*, *Idh2-6*, compared with that reported by Doebly *et al.* (1985); Doebly *et al.* (1988).

However, there were also differences, López *et al.* (2009) found higher frequencies of the allele *Mdh2-3* in this work; the same happened for allele *Mdh5-15* when compared with the results of Llauro *et al.* (1993); Doebly *et al.* (1985; 1988); Santacruz *et al.* (2004). In the case of the allele *Got3-4*, López *et al.* (2009); Llauro *et al.* (1993); Doebly *et al.* (1988); Santacruz *et al.* (2004) found the same fixation, a situation that did not occurred in this work. This information illustrates the difference in allele frequencies between maize populations expected to find in different countries, regions or micro-regions, a situation that is generally attributed to processes such as special-handling, crop selection, migration, mutation and genetic drift (Pressoir and Berthaud, 2004).

For the study region and due to its small size, it's difficult to attribute the differences in gene frequencies between groups of isoenzymes to factors such as adaptation or selection, as it would be expected that those had no effect on the allelic distribution, since the isoenzymes are considered selectively neutral-markers (Nevo *et al.*, 1988); however, association was detected between the change in gene frequencies in loci of isozyme and selection for improving yield and management by farmers (Stuber *et al.*, 1980).

Genetic differentiation

The genetic differentiation (G_{ST}) is a parameter denoting the variability between populations, and its complement the variability within them (Nei, 1973). The Table 4 presents the values of G_{ST} in the five groups of native populations, racial controls and other studies. The lowest

adaptación o la selección, ya que se esperaba que aquellos no tuvieran efecto en la distribución alélica debido a que las isoenzimas se consideran como marcadores selectivamente neutros (Nevo *et al.*, 1988); no obstante, se ha detectado asociación entre el cambio en las frecuencias génicas en loci de isoenzimas y la selección para mejorar el rendimiento y el manejo por parte de los agricultores (Stuber *et al.*, 1980).

Diferenciación genética

La diferenciación genética (G_{ST}) es un parámetro que denota la variabilidad entre poblaciones, siendo su complemento la variabilidad dentro de las mismas (Nei, 1973). En el Cuadro 4 se presentan los valores de G_{ST} en los cinco grupos de poblaciones nativas, testigos raciales y otros estudios. Los menores valores de diferenciación genética, considerando todos los loci, se presentaron en los cinco grupos de poblaciones nativas; a nivel de grupo el valor de G_{ST} fue de 0.085, indicando que 8.5% de la variación residió entre grupos y 91.5% dentro de éstos, considerando la diferenciación como moderada (Snyder *et al.*, 1985).

values of genetic differentiation, considering all loci, were presented in all five groups of native populations; at Group level the G_{ST} value was 0.085, indicating that 8.5% of the variation laid between groups and 91.5% within them, considering as moderate differentiation (Snyder *et al.*, 1985).

Group II had the highest genetic differentiation at the locus *Mdh5* (0.227), and lowest in the locus *Mdh2*, contrary to what was found for this locus in the former group. Group III had the lowest genetic differentiation in all loci with respect to the other groups, proving to be the group with more homogeneous populations.

Group IV was characterized by presenting the lowest differentiation in locus *Got1*, and the highest in *Mdh5* and *Phi1*. The average value of G_{ST} was low and similar to Group III (Table 4). The Group V, despite having the lowest values of G_{ST} in relation to the other groups in loci *Mdh1*, *Mdh3* and *Phi1* (0.001), it was the one who with highest allelic richness in the locus *Glu1* (0.169).

Cuadro 4. Diferenciación genética (G_{ST}) de grupos con base en 14 loci de isoenzimas, procedentes de 51 poblaciones nativas de maíz y seis testigos raciales[†].

Table 4. Genetic differentiation (G_{ST}) of groups based on 14 loci of isoenzymes, from 51 native maize populations and six racial controls[†].

Locus	Grupos de poblaciones nativas					Nativas (n=51)	Testigos (n=6)	Global (n=57)	Oaxaca [¶]	México ^{¶¶}	España [§]
	I (n=16)	II (n=8)	III (n=10)	IV (n=14)	V (n=3)						
<i>Glu1</i>	0.081	0.032	0.056	0.021	0.169	0.064	0.833	0.149	0.163	0.278	0.11
<i>Mdh1</i>	0.034	0.005	0.019	0.063	0.001	0.036	0.136	0.042	0.107	0.342	0.323
<i>Mdh2</i>	0.168	0.002	0.065	0.046	0.065	0.082	0.539	0.225	0.093	0.256	0.118
<i>Mdh3</i>	0.019	0.035	vi	0.013	0.001	0.022	vi	0.025	vi	0.362	0.243
<i>Mdh5</i>	0.203	0.227	0.09	0.118	0.104	0.174	0.128	0.253	0.122	0.361	0.102
<i>Acp1</i>	0.035	0.04	0.023	0.076	0.037	0.058	0.031	0.064	0.078	0.269	0.163
<i>Cat3</i>	vi	0.057	0.077	vi	0.07	0.025	0.326	0.276	0.083	0.338	vi
<i>Got1</i>	0.093	0.140	0.006	0.001	0.016	0.049	0.042	0.051	0.092	0.25	0.118
<i>Got3</i>	0.053	vi	vi	vi	vi	0.047	1	0.98	vi	0.2	vi
<i>Est8</i>	0.089	0.048	0.072	0.094	0.032	0.083	0.033	0.09	0.139	0.203	0.127
<i>Idh1</i>	0.049	0.086	0.044	0.078	0.026	0.056	0.179	0.522	0.375	0.233	0.102
<i>Idh2</i>	0.111	0.215	0.084	0.056	0.116	0.117	0.228	0.173	0.136	0.283	0.116
<i>Phi1</i>	0.065	0.073	0.066	0.11	0.001	0.091	0.695	0.551	0.105	0.215	0.259
<i>Pgm2</i>	0.118	0.025	0.011	0.026	0.04	0.055	vi	0.154	vi	0.299	0.166
G_{ST}	0.108	0.08	0.054	0.06	0.066	0.085	0.363	0.213	0.126	0.27	0.149

[†]= no se incluyeron los loci monomórficos *Adh1*, *Got2*, *Mdh4* y *Pgm1*; vi= valor indeterminado en locus y grupos específicos; [¶]= López *et al.* (2009); ^{¶¶}= Doebley *et al.* (1985); [§]= Llaurodo *et al.* (1993).

El grupo II presentó la mayor diferenciación genética en el locus *Mdh5* (0.227), y la menor en el locus *Mdh2*, contrariamente a lo encontrado para este locus en el grupo anterior. El grupo III presentó la menor diferenciación genética en todos los loci con respecto a los otros grupos, mostrándose como el grupo con las poblaciones más homogéneas.

El Grupo IV se caracterizó por presentar la menor diferenciación en el locus *Got1*, y la mayor en *Mdh5* y *Phi1*. El valor promedio de G_{ST} fue bajo y semejante al del grupo III (Cuadro 4). El Grupo V, a pesar de presentar los menores valores de G_{ST} respecto a los demás grupos en los loci *Mdh1*, *Mdh3* y *Phi1* (0.001), fue el que tuvo una mayor riqueza alélica en el locus *Glu1* (0.169).

Comparando los valores de diferenciación genética (G_{ST}) del conjunto de poblaciones nativas de la región de estudio con otros trabajos, se tiene que los primeros fueron menores a los obtenidos por López *et al.* (2009) en maíces del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca (0.126), por Llauro *et al.* (1993) en maíces de España (0.149) y por Doebley *et al.* (1985) en 34 razas mexicanas (0.277). Los testigos raciales en conjunto presentaron un G_{ST} de 0.363. Una explicación puede ser las diferencias en cuanto al área explorada, pues en el presente estudio ésta abarcó 2 479 km² (INAFED, 2009), mientras que en Tehuantepec fue de 13 000 km² (López *et al.*, 2009), y en España de 110 000 km² (Revilla *et al.*, 1998).

Relaciones filogenéticas

En la Figura 1 se observa que los cinco grupos de poblaciones nativas se alejaron como una rama separada de los testigos raciales utilizados, excepto de Chalqueño, testigo al cual quedaron unidas de manera cercana, implicando que el conjunto de poblaciones nativas se derivó de tal raza (Wellhausen *et al.*, 1951), pero que en la actualidad ya se ha presentado una divergencia importante respecto a la misma, particularmente a frecuencias alélicas de isoenzimas, debido posiblemente al flujo génico (Pressoir y Berthaud, 2004).

La ubicación del resto de los testigos en la parte basal del filograma puede explicarse por la mayor antigüedad de algunas razas: Palomero Toluqueño se considera como una raza Indígena Antigua, Cónico como una raza Mestiza Precolombina y Cónico Norteño como una raza Moderna Incipiente (Wellhausen *et al.*, 1951), lo que da como resultado el que tengan combinaciones alélicas diferentes a las que presentan las poblaciones nativas de la región centro-oriente del estado de Puebla.

Comparing the values of genetic differentiation (G_{ST}) of all native populations of the region under study with other works, the first ones were lower than those obtained by López *et al.* (2009) in maize from the Isthmus of Tehuantepec, Oaxaca (0.126), for Llauro *et al.* (1993) in maize in Spain (0.149) and Doebley *et al.* (1985) in 34 races in Mexico (0.277). The racial controls as a whole presented a G_{ST} 0.363. One explanation may be difference in terms of the area explored in this study because it included 2 479 km² (INAFED, 2009), while in Tehuantepec was 13 000 km² (López *et al.*, 2009) and in Spain 110 000 km² (Revilla *et al.*, 1998).

Phylogenetic relationships

The Figure 1 shows that, the five groups of native populations are in a separated branch away from the racial controls used, except Chalqueño, which were united quite closely, implying that the whole native population was derived from such a race (Wellhausen *et al.*, 1951), but currently there has been a significant divergence, particularly in allelic frequencies of isoenzymes, possibly due to gene flow (Pressoir and Berthaud, 2004).

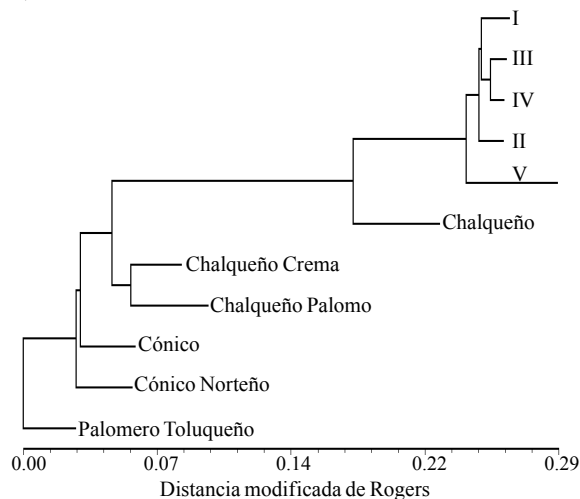


Figura 1. Filograma de grupos de poblaciones nativas y testigos raciales mediante el método de agrupamiento de vecinos, utilizando la distancia modificadas de Rogers con base en la frecuencia de 52 alelos de isoenzimas.

Figure 1. Phylogenetic tree of native populations groups and racial controls by the Neighbor-Joining method, using Rogers' modified distances based on the frequency of 52 alleles of isoenzymes.

The location of the racial controls in the basal area of the phylogenetic tree can be explained by the greater age of some races: Palomero Toluqueño is considered an ancient

CONCLUSIONES

Los grupos de poblaciones nativas de maíz de los Llanos de Serdán, Puebla presentaron diferencias en frecuencias alélicas de isoenzimas, principalmente en los loci *Acp1*, *Est8*, *Got3*, *Glu1*, *Idh2* y *Mdh5*, los cuales contribuyeron en mayor medida a la separación de los grupos y se caracterizaron por presentar un bajo número de alelos por locus (2.8), un bajo porcentaje de alelos raros (13%), polimorfismo de 89% y heterocigosidad esperada de 0.27; parámetros comparables con los de otras regiones de nuestro país.

Los parámetros de diversidad genética permitieron establecer que los grupos de poblaciones nativas presentaron una diferenciación genética moderada, con variación isoenzimática contenida en 91.5% dentro de grupos y 8.5% entre grupos.

Se evidenció divergencia de las poblaciones nativas con respecto a los testigos raciales utilizados, excepto Chalqueño, el cual presentó mayor similitud en frecuencias alélicas, indicando que las poblaciones nativas de maíz de la región de estudio tienen mayor afinidad genética con la raza de maíz Chalqueño.

LITERATURA CITADA

- Bretting, P. K.; Goodman, M. M. and Stuber, C. W. 1990. Isozymatic variation in Guatemalan races of maize. *Ame. J. Bot.* 77:211-225.
- Bretting, P. K. and Widrlechner, M. P. 1995. Genetic markers and plant genetic resources management. *In*: Janick, J. (ed.). *Plant Breed. Rev.* 13:11-86.
- Brown, A. H. D. and Weir, B. S. 1983. Measuring genetic variability in plant populations. *In*: Tanksley, S. D. and Orton, T. J. (eds.). *Isozymes in Plant Genetics and Breeding. Part A.* Elsevier. New York. USA. 219-239 pp.
- Crossa, J.; Hernández, C. M.; Bretting, P.; Eberhart, S. A. and Taba, S. 1993. Statistical genetic considerations for maintaining germplasm collections. *Theor. Appl. Genet.* 86:673-678.
- Doebley, J. F.; Goodman, M. M. and Stuber, C. W. 1985. Isozyme variation in races of maize from Mexico. *Am. J. Bot.* 72:629-639.
- Doebley, J. F.; Goodman, M. M. and Stuber, C. W. 1986. Exceptional genetic divergence of Northern flint corn. *Am. J. Bot.* 73:64-69.
- Doebley, J. F.; Wendel, J. D.; Smith, S. C.; Stuber, C. W. and Goodman, M. M. 1988. The origin of corn belt maize: the isozyme evidence. *Econ. Bot.* 42:120-131.
- Goodman, M. M. and Stuber, C. W. 1983. Races of maize. VI. Isozyme variation among races of maize in Bolivia. *Maydica.* 28:169-187.
- Hortelano, S. R. R. 2006. Diversidad morfológica y genética de maíces nativos del Valle de Puebla. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 177 p.

End of the English version



- Hortelano, S. R. R.; Gil, M. A.; Santacruz, V. A.; Miranda, C. S. y Córdova, T. L. 2008. Diversidad morfológica de maíces nativos del Valle de Puebla. *Agríc. Téc. Méx.* 34:189-200.
- Hortelano, S. R. R. 2010. Diversidad morfológica y variación isoenzimática de maíces nativos del Altiplano Centro-Oriente del estado de Puebla. Tesis de Doctorado en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 68 p.
- Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal (INAFED). 2009. Enciclopedia de los municipios de México. Gobierno del Estado de Puebla. URL: <http://www.e-local.gob.mx/wb2/ELOCAL/EMM.Puebla>.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 2002. Anuario Estadístico del Estado de Puebla. Tomo II. Aguascalientes, Aguascalientes. México. 508 p.
- Kato, Y. T. A. 1984. Chromosome morphology and the origin of maize and its races. *Evolutionary Biol.* 17:219-253.
- Kato, Y. T. A.; Mapes, S. C.; Mera, O. L. M.; Serratos, H. J. A. y Bye, B. R. A. 2010. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. UNAM, CONABIO. D. F., México. 116 p.
- Liu, B. H. 1998. Statistical genomics: linkage, mapping, and QTL analysis. CCR Press. Boca Raton, Florida, USA. 611 p.
- Llauradó, M.; Moreno, G. J. and Arús, P. 1993. Classification of northern spanish populations of maize by methods of numerical taxonomy. II. Isozyme variation. *Maydica*. 38:249-258.
- López, R. G.; Santacruz, V. A.; Muñoz, O. A.; Castillo, G. F.; Córdova, T. L. y Vaquera, H. H. 2009. Perfil isoenzimático de maíces nativos del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, México. II. Variación dentro de grupos. *Rev. Fitotec. Méx.* 30:177-188.
- Mijangos, C. J. O.; Corona, T. T.; Espinosa, V. D.; Muñoz, O. A.; Romero, P. J. and Santacruz, V. A. 2007. Differentiation among maize (*Zea mays* L.) landraces from the Tarasca Mountain Chain, Michoacán, Mexico and the Chalqueño complex. *Genet. Res. Crop Evol.* 54:309-325.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA.* 70:3321-3323.
- Nei, M. 1987. *Evolutionary genetics*. Columbia University Press. New York. 512 p.
- Nevo, E.; Beiles, A. and Krugman, T. 1988. Natural selection of aloczyme polymorphism: a microgeographical differentiation by edaphic, topographical and temporal factors in wild emmer wheat (*Triticum diccocooides*). *Theor. Appl. Genet.* 76:737-752.
- Pressoir, G. and Berthaud, J. 2004. Population structure and strong divergent selection shape phenotypic diversification in maize landraces. *Heredity*. 92:95-101.
- Revilla, P. and Tracy, W. F. 1995. Isozyme variation and phylogenetic relationships among open-pollinated sweet corn cultivars. *Crop Sci.* 35:219-227.
- Revilla, P.; Soengas, P.; Malvar, R. A.; Carrea, M. A. and Ordás, A. 1998. Isozyme variation and historical relationships among the maize races of Spain. *Maydica*. 43:175-182.
- Rogers, J. S. 1986. Deriving phylogenetics trees from allele frequencies: a comparison of nine genetic distances. *Syst. Zool.* 35:297-310.
- Rohlf, F. 1993. NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 1.8. Exeter Software. Setauket, NY, USA.
- Saitou, N. and Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molec. Biol. Evol.* 4:406-425.
- Sánchez, G. J. J.; Goodman, M. M. and Stuber, C. W. 2000a. Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Econ. Bot.* 54:43-59.
- Sánchez, G. J. J.; Goodman, M. M. and Stuber, C. W. 2000b. Isozymatic diversity in the races of maize of the Americas. *Maydica*. 45:43-59.
- Santacruz, V. A.; Widrlechner, M. P.; Ziegler, K. E.; Salvador, R. J.; Millard, M. J. and Bretting, P. K. 2004. Phylogenetic relationships among North American popcorns and their evolutionary links to Mexican and South American popcorns. *Crop Sci.* 44:1456-1467.
- Servicio de Información Estadística Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2010. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Estado de Puebla. URL: http://www.siap.gob.mx/aagricola_siap/lcultivo/index.jsp.
- Smith, J. S. C. 1986. Genetic diversity within the corn belt dent racial complex of maize (*Zea mays* L.). *Maydica*. 31:349-367.
- Snyder, L. A.; Freifelder, D. and Hartl, D. L. 1985. *General genetics*. Jones and Bartlett. Boston, MA, USA. 666p.

- Stuber, C. W.; Moll, R. H.; Goodman, M. M.; Schaffer, H. E. and Weir, B. S. 1980. Allozyme frequency changes associated with selection for increased grain yield in maize (*Zea mays* L.). *Genetics*. 95:225-235.
- Stuber, C. W.; Wendel, J. F.; Goodman, M. M. and Smith, J. S. C. 1988. Techniques and scoring procedures for starch gel electrophoresis of enzymes from maize (*Zea mays* L.). North Carolina Agricultural Research Service. Technical Bulletin No. 286. Raleigh, North Carolina, USA. 87 p.
- Wellhausen, E. J.; Roberts, L. M.; Hernández, X. E. y Mangelsdorf, P. C. 1951. Razas de maíz en México: su origen, características y distribución. Oficina de Estudios Especiales. S. A. México. Folleto técnico. Núm. 5. 239 p.
- Yeh, C. F.; Yang, R. and Boyle, T. 1999. POPGENE version 1.31. Microsoft Windows-based freeware for population genetic analysis. Quick user guide. University of Alberta and Centre for International Forestry Research. Edmonton, AB. Canadá. 29 p.