

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD DE POBLACIONES NATIVAS DE MAÍZ DE LA
RAZA RATÓN DE COAHUILA, MÉXICO

Tesis

Que presenta DELIA MARGARITA OLVERA AGUILAR

como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRA EN CIENCIAS EN FITOMEJORAMIENTO

Saltillo, Coahuila

Julio 2022


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD DE POBLACIONES NATIVAS DE MAÍZ DE LA
RAZA RATÓN DE COAHUILA, MÉXICO

Tesis

Que presenta DELIA MARGARITA OLVERA AGUILAR
como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRA EN CIENCIAS EN FITOMEJORAMIENTO



Dr. Froylán Rincón Sánchez
Director UAAAN



Dr. César Daniel Petroli Leguiza
Director Externo

Saltillo, Coahuila

Julio 2022

ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD DE POBLACIONES NATIVAS DE MAÍZ DE LA
RAZA RATÓN DE COAHUILA, MÉXICO

Tesis

Elaborada por DELIA MARGARITA OLVERA AGUILAR como requisito parcial
para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Fitomejoramiento con la
supervisión y aprobación del Comité de Asesoría

Dr. Froylán Rincón Sánchez
Asesor Principal

Dra. Norma Angélica Rulz Torres
Asesor

Dr. Juan Manuel Martínez Reyna
Asesor

Dr. César Daniel Petrolí Leguiza
Asesor

Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente
Subdirector de Postgrado
UAAAN

Saltillo, Coahuila

Julio 2022

Dedicatoria

A ti Dios por permitirme terminar esta etapa de mi vida y por poner en mi camino las herramientas necesarias para alcanzarlos.

Con amor a mis padres Abdiel Olvera Espinoza y Adela Aguilar Hernández por su apoyo incondicional en cada paso de mi vida, por enseñarme valores y por mostrarme la fortaleza y la perseverancia para ser una mejor persona.

A mi esposo Francisco Medina Pérez por su amor y su apoyo incondicional.

A mis hermanas Patricia, Adela, María de Jesús, Yazmín y Yuliana por el apoyo y cariño siempre.

Al Profesor Luis Manuel Hernández Castillo y al Lic. Juan Manuel Sánchez Hernández[†] por su apoyo profesional, por su amistad, por sus orientaciones y por ser mis primeras guías en mi formación educativa.

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN).

Al departamento de Fitomejoramiento de la UAAAN por abrirme las puertas de sus instalaciones y servicios para llevar a cabo mi formación profesional.

A CONACYT por el apoyo económico otorgado para la realización de los estudios de maestría.

A mi asesor principal el Dr. Froylán Rincón Sánchez por hacerme participe de su proyecto, por su apoyo y orientación incondicional, dedicación y tiempo para la realización de mi trabajo de tesis.

A la Dra. Norma Angélica Ruíz Torres y al Dr. Juan Manuel Martínez Reyna por su apoyo, tiempo y orientación en mi trabajo de tesis.

Al Dr. César Daniel Petroli Leguiza por su orientación y el apoyo para la realización de la estancia académica en el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT).

A Ulises, Víctor, Melisa, Humberto, Francisca y al Dr Javier por su apoyo en el trabajo de campo y laboratorio para la realización de mi trabajo de tesis.

Índice general

	Página
Lista de cuadros.....	ix
Lista de figuras.....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	16
OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	18
Objetivo general.....	18
Objetivos específicos.....	18
Hipótesis.....	18
REVISIÓN DE LITERATURA.....	19
Descripción del maíz.....	19
Importancia del maíz en México.....	19
Estudios de diversidad del maíz.....	20
Diversidad y clasificación racial del maíz en México.....	21
Diversidad de maíces nativos en Coahuila, México.....	23
Descripción de la diversidad del maíz.....	23
Caracterización morfológica.....	23
Caracterización genética.....	24
Características de la raza Ratón.....	26
MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
Parte 1 Caracterización morfológica.....	28
Material vegetal.....	28
Ubicación del sitio experimental.....	28
Diseño experimental.....	28
Fertilización.....	29
Riegos.....	29
Labores culturales.....	29
Caracteres evaluados.....	29
Caracteres agronómicos.....	29
Descripción morfológica.....	31

Caracteres de la planta	31
Caracteres de la mazorca	32
Caracteres del grano	33
Análisis de la información para la descripción morfológica	34
Selección de caracteres para la clasificación	35
Análisis de dispersión y clasificación	35
Subconjunto representativo	36
Parte 2 Caracterización genética.....	36
Material vegetal	36
Ubicación del sitio experimental	37
Extracción de ADN genómico.....	37
Liofilización.....	37
Molienda.....	37
Extracción de ADN	37
Verificación de la calidad del ADN genómico	38
Preparación del ADN templado por el método DArTseq	38
Reducción de complejidad genómica.....	38
Amplificación por PCR.....	40
Revisión de calidad	40
Mezclado purificación y cuantificación	41
Secuenciación de fragmentos	41
Secuenciación por síntesis.....	41
Obtención y análisis de datos.....	41
Identificación de marcadores.....	41
Matriz de datos alélicos de SNPs	42
Tamizaje de datos	42
Análisis de diversidad genética	43
Heterocigosidad	43
Número de alelos efectivos	44
Índice de Shannon	44
Número de alelos raros	44
Matriz de distancia genética	44

Ordenamiento de poblaciones.....	45
Relación entre poblaciones	45
Subconjunto representativo	45
Coeficientes de divergencia genética	46
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
Parte 1 Caracterización morfológica.....	47
Descripción morfológica	47
Selección de caracteres para la clasificación	51
Ordenamiento de las poblaciones	53
Análisis de conglomerados.....	57
Subconjunto representativo	61
Parte 2 Caracterización genética.....	65
Análisis molecular de la varianza	65
Índices de diversidad genética	66
Ordenamiento de poblaciones.....	70
Relación entre poblaciones	73
Subconjunto representativo con SNPs	77
Coeficientes de divergencia genética	82
CONCLUSIONES	85
REFERENCIAS	86

Lista de cuadros

	Página
Cuadro 1. Clasificación racial y frecuencia de las 83 poblaciones de la raza Ratón de maíz con base a la altitud del sitio de colecta, Coahuila, México.....	28
Cuadro 2. Soluciones y sus concentraciones para la digestión del ADN genómico.....	39
Cuadro 3. Soluciones y sus concentraciones para la ligación del ADN genómico.....	39
Cuadro 4. Componentes y concentraciones para la PCR.....	40
Cuadro 5. Cuadrados medios del análisis de varianza de 83 poblaciones nativas de maíz de la raza Ratón.....	48
Cuadro 6. Estimadores de componentes de varianza para poblaciones, ambientes, interacción poblaciones x ambientes y repetibilidad.....	51
Cuadro 7. Valores y vectores característicos asociados a los tres primeros componentes principales de análisis de las variables para la descripción morfológica.....	53
Cuadro 8. Promedios de los caracteres evaluados de cuatro subgrupos identificados en 83 poblaciones de maíz de la raza Ratón de Coahuila.....	59
Cuadro 9. Promedios de los caracteres morfológicos del subconjunto representativo de 13 poblaciones de la raza Ratón de Coahuila.....	63
Cuadro 10. Análisis molecular de la varianza.....	65
Cuadro 11. Índices de diversidad genética de 81 poblaciones nativas de maíz de la raza Ratón de Coahuila.....	67
Cuadro 12. Promedios de los caracteres morfológicos del subconjunto representativo de 10 poblaciones de la raza Ratón de Coahuila.....	80

Lista de figuras

	Página
Figura 1. Dispersión gráfica de 83 poblaciones nativas de maíz de la raza Ratón de Coahuila.....	55
Figura 2. Dendrograma de 83 poblaciones nativas de maíz de la raza Ratón de Coahuila.....	58
Figura 3. Dispersión gráfica de 81 poblaciones nativas de maíz de la raza Ratón de Coahuila.....	71
Figura 4. Dendrograma de 81 poblaciones nativas de maíz de la raza Ratón de Coahuila.....	74
Figura 5. Dispersión gráfica de los valores de distancia genética y fenotípica de los pares posibles entre 81 poblaciones nativas de maíz de la raza Ratón de Coahuila.....	82

RESUMEN

ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD DE POBLACIONES NATIVAS DE MAIZ DE LA
RAZA RATÓN DE COAHUILA, MÉXICO

POR

DELIA MARGARITA OLVERA AGUILAR
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN FITOMEJORAMIENTO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DR. FROYLÁN RINCÓN SÁNCHEZ – ASESOR –

Saltillo, Coahuila

Julio 2022

La raza Ratón de maíz es un componente importante dentro de la diversidad genética en Coahuila, México, por sus amplia distribución y adaptación. El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio de la diversidad genética a través de una caracterización morfológica y genética de 83 poblaciones nativas de la raza Ratón e identificar un subconjunto que represente la diversidad. Las poblaciones fueron establecidas para evaluación en experimentos repetidos en dos localidades contrastantes con dos fechas de siembra. Se registraron 26 caracteres cuantitativos de la planta, espiga, mazorca y grano y 14 índices entre caracteres. Se realizó el análisis genético utilizando marcadores moleculares con polimorfismo de un solo nucleótido (SNPs). El análisis de varianza mostró diferencias ($p \leq 0.01$) entre poblaciones para todos los caracteres, como un indicador de la diversidad. Con base en el índice de repetibilidad ($r > 1.0$) se seleccionaron 10 caracteres y 9 índices menos influenciados por el ambiente, útiles para la clasificación. Con el 53.3% de la variación explicada, el análisis de componentes principales mostró que los caracteres vegetativos y de la espiga fueron los que aportaron a describir la variación fenotípica entre las poblaciones. La diferenciación genética dentro de los grupos fue de 92%, con una H_e de 0.43 en promedio. El análisis de diversidad con datos morfológicos y genéticos estuvo asociado al área de adaptación de las poblaciones, con algunas inconsistencias en la agrupación, debido a que el análisis genético se basa en las secuencias de ADN, comparados con los valores fenotípicos que son influenciados por el ambiente. Se obtuvo un subconjunto representativo estratificado y proporcional a la variación de las poblaciones con datos morfológicos del 15.7 %, en tanto que, en el subconjunto con datos genéticos fue del 20.0%, el cual representó la máxima variación alélica de las poblaciones de la raza Ratón. Entre los caracteres morfológicos y genéticos se encontró una asociación positiva de $r=0.18$, con un patrón de diversidad asociado a la altitud de procedencia de las poblaciones, lo que indica que, en ambos casos, la variación del maíz está estrechamente relacionada con la altitud, latitud y los gradientes de temperatura y humedad.

Palabras clave: *Zea mays* L., maíces nativos, índice de repetibilidad, diversidad genética, subconjunto representativo de diversidad, marcadores SNPs.

ABSTRACT

STUDY OF THE DIVERSITY OF NATIVE POPULATIONS OF CORN OF THE
MOUSE BREED OF COAHUILA, MEXICO

BY

DELIA MARGARITA OLVERA AGUILAR
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN FITOMEJORAMIENTO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DR. FROYLÁN RINCÓN SÁNCHEZ – ASESOR –

Saltillo, Coahuila

Julio 2022

The maize Raton race is an important component within the genetic diversity in Coahuila, Mexico, for its wide distribution and adaptation. The objective of this work was to carry out a study of genetic diversity through a morphological and genetic characterization of 83 native populations of the Raton race and to identify a subset that represents diversity. Populations were established for evaluation in repeated experiments in two contrasting locations with two planting dates. Twenty-six quantitative characters of the plant, spike, cob, and grain and 14 indices between characters were recorded. Genetic analysis was performed using molecular markers with single nucleotide polymorphism (SNPs). Analysis of variance showed differences ($p \leq 0.01$) between populations for all characters, as an indicator of diversity. Based on the repeatability index ($r > 1.0$) 10 characters and 9 indices less influenced by the environment were selected, useful for classification. With 53.3% of the variation explained, the analysis of principal components showed that the vegetative and spike characters were those that contributed to describe the phenotypic variation between the populations. Genetic differentiation within the groups was 92%, with an H_e of 0.43 on average. The analysis of diversity with morphological and genetic data was associated with the area of adaptation of the populations, with some inconsistencies in the grouping, because the genetic analysis is based on DNA sequences, compared to the phenotypic values that are influenced by the environment. A stratified and proportional representative subset to the variation of the populations was obtained with morphological data of 15.7%, while the genetic data subset was 20.0%, which represented the maximum allelic variation of the populations of the Raton race. Between the morphological and genetic characters, a positive association of $r=0.18$ was found, with a pattern of diversity associated with the altitude of origin of the populations, which indicates that, in both cases, the variation of maize is closely related to altitude, latitude and temperature and humidity gradients.

Keywords: *Zea mays* L., native maize, repeatability index, genetic diversity, representative subset of diversity, SNPs markers.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) se ha considerado un cultivo de gran importancia para la seguridad alimentaria por ser una de las principales fuentes de alimentación, forraje e industria. En México se han descrito 59 razas de maíz de acuerdo con la similitud de sus características morfológicas (Sánchez *et al.*, 2000). Gran parte de la diversidad del maíz se encuentra en forma de variedades nativas en los campos de los agricultores en una amplia gama de ambientes, desde el nivel del mar hasta los 2,900 m y en ambientes húmedos tropicales hasta condiciones semidesérticas (Ruiz *et al.*, 2008).

La variación genética entre y dentro de las razas nativas está asociada a la recombinación genética entre materiales nativos con introducidos, el movimiento de semilla entre agricultores de esta u otra región, el manejo agronómico y la adaptación específica de las poblaciones, lo cual justifica la numerosa presencia de razas nativas con capacidad de adaptación a distintas condiciones ambientales (Chávez-Servía *et al.*, 2011).

Las poblaciones de maíces nativos son poblaciones heterogéneas, heterocigotas, desarrolladas y conservadas por los agricultores a través de múltiples generaciones de selección empírica para caracteres específicos como textura de grano, color, forma de mazorca, sanidad, ciclo vegetativo, entre otros (Rincón *et al.*, 2010).

Estas poblaciones son diferentes y distinguibles unas de otras por lo que es posible precisar su identidad en términos morfológicos y genéticos. La descripción y clasificación de la diversidad, se puede realizar empleando descriptores para caracteres morfológicos (Beyene *et al.*, 2005) y marcadores moleculares (Govindaraj *et al.*, 2015).

Los estudios de diversidad en poblaciones variantes de una raza son de gran utilidad, para definir estrategias de conservación y uso, así como la identificación de alelos que contribuyan a mejorar la productividad dentro de regiones (Rocandio-Rodríguez *et al.*, 2014a).

Estudios de diversidad de maíces nativos realizados en Coahuila, han identificado principalmente a la raza Ratón como la más importante por su amplia presencia y distribución en gran parte de las condiciones ambientales, debido a su capacidad de adaptación agroecológica y sus características agronómicas (Rincón *et al.*, 2010; Rincón y Ruiz *et al.*, 2015).

Bajo este contexto el presente trabajo tiene como objetivo realizar un estudio de diversidad de las poblaciones nativas de la raza Ratón de Coahuila, mediante los caracteres morfológicos y marcadores moleculares SNPs.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Objetivo general

Analizar la diversidad genética de poblaciones nativas de maíz de la raza Ratón de Coahuila, México.

Objetivos específicos

- Realizar la caracterización morfológica de poblaciones nativas de maíz de la raza Ratón de Coahuila.
- Realizar la caracterización genética de poblaciones nativas de maíz de la raza Ratón de Coahuila, mediante marcadores moleculares tipo SNPs.
- Obtener un subconjunto representativo de la diversidad utilizando caracteres morfológicos y genéticos.
- Analizar la relación entre caracteres morfológicos y genéticos en el estudio de diversidad de maíz de la raza Ratón de Coahuila.

Hipótesis

El estudio de la diversidad de poblaciones pertenecientes a la raza Ratón de Coahuila mediante la comparación de datos morfológicos y genéticos permitirá determinar con mayor precisión las relaciones dentro de esta raza de maíz, y la obtención de subconjuntos que representen su diversidad genética.

REVISIÓN DE LITERATURA

Descripción del maíz

El maíz (*Zea mays* L.) pertenece a la familia botánica *Gramineae*. Es una gramínea anual productora de grano, dotada de tallos fuertes, con un amplio sistema radicular fibroso y un área foliar abundante, cultivada en todas las regiones del país (desde el nivel del mar hasta altitudes superiores a los 2900 m) y con distintas condiciones de humedad, ya sea de temporal o riego (Ruíz *et al.*, 2008).

El maíz es una planta monoica con flores diclinas, debido a que produce flores masculinas (panícula) encargadas de producir polen y flores femeninas (mazorca) las cuales forman el saco embrionario que se convertirá en semilla. En la mazorca se forman los granos, los cuales están encerrados en numerosas brácteas o vainas de las hojas (totomoxtle), de la punta del raquis cilíndrico (olote) emergen los estilos que tienen forma de hilos sedosos (pelos de elote).

El grano o semilla es un fruto independiente llamado cariósipide que está insertado en el raquis. Las estructuras que constituyen el grano son: pericarpio, endospermo y embrión, las cuales le confieren propiedades físicas y químicas como el color, textura, tamaño, etc. importantes en la selección del grano como alimento.

Importancia del maíz en México

En México, el maíz (*Zea mays* L.) se ha considerado un cultivo de gran importancia para la seguridad alimentaria por ser una de las principales fuentes de alimentación, forraje e industria, y representativo en cuanto a cultura y tradiciones culinarias. Es el único cereal que puede ser usado como alimento en cualquier etapa del desarrollo de la planta (SADER, 2019).

En el 2020, a nivel mundial, México ocupó el octavo lugar de producción de maíz para grano con una superficie sembrada de 7.472 millones de ha, con un volumen de 27 millones 425 mil toneladas, equivalente a 3.8 t ha⁻¹ de rendimiento, producidas bajo condiciones de riego (22.7%) y temporal (77.3%) (SIAP, 2021).

El Porcentaje del valor de la producción por entidad federativa fue para Sinaloa (20.3%), Jalisco (15.1%) y Michoacán (8.0%). Para el caso de Coahuila la producción de maíz para grano tuvo una participación de 0.08% el equivalente al 23,094.57 ha de superficie sembrada con un rendimiento de 0.91 t ha⁻¹ (SIAP, 2021).

Estudios de diversidad del maíz

La diversidad observada de caracteres en razas de maíz es el resultado, en parte, de la selección dirigida por el agricultor con el objetivo de satisfacer sus necesidades de consumo, socioeconómicas y de producción (Rincón *et al.*, 2010).

Describir la diversidad del maíz es una tarea compleja ya que se deben analizar en conjunto una serie de aspectos que inciden en la diversificación de esta planta cultivada. Se consideran los aspectos biológicos (mutación, selección y recombinación), la etnobotánica, así como la dinámica de los sistemas agrícolas tradicionales relacionados con las necesidades a largo plazo, el crecimiento y expectativas de vida de las sociedades (Mapes y Mera, 2009).

La diversidad del maíz presente en México ha sido descrita de acuerdo con dos tipos de pensamiento: 1) La etnotaxonomía en donde el maíz recibe los nombres según su morfología o utilidad y 2) La ciencia occidental, la cual se basa en las reglas de la taxonomía botánica donde se incluye la especie, subespecie, variedad y raza (Perales y Hernández, 2005).

Este último concepto ha sido utilizado mundialmente para la clasificación del maíz y definido por Anderson y Cutler (1942) como un grupo de individuos emparentados, con suficientes características en común para permitir su reconocimiento como grupo.

Los estudios y clasificaciones de la diversidad de las razas han considerado regiones como México y el continente americano y describen las razas y sus agrupamientos de acuerdo con la similitud de sus características morfológicas (Sánchez *et al.*, 2000).

Con el uso de la taxonomía numérica fue posible analizar la variabilidad del maíz de una forma sistemática, lo cual se pudo lograr gracias al desarrollo de los métodos estadísticos y los sistemas de cómputo que proporcionaban la ventaja de manejar una gran cantidad de variables (Sneath y Sokal, 1973).

Diversidad y clasificación racial del maíz en México

En América Latina se cuenta con 220 razas existentes, de las cuales 59 se han identificado y descrito para México, agrupadas en ocho complejos raciales, los cuales son cónico, sierra de chihuahua, ocho hileras, chapalote, tropicales precoces, dentados tropicales y maduración tardía (CONABIO, 2020), por lo que es considerado el centro de origen del maíz ya que es donde se ha registrado la mayor diversidad genética existente (Wellhausen *et al.*, 1951).

Esta variabilidad se debe a la selección practicada por el hombre a través del proceso de domesticación, así como a los numerosos nichos ecológicos y los efectos ambientales que cada condición climática ejerce sobre las poblaciones para determinar la adaptación de estas (Caraballoso *et al.*, 2000).

Gran parte de la diversidad genética del maíz nativo de México, aún se puede encontrar en los campos agrícolas en forma de variedades o poblaciones nativas desarrolladas por los agricultores que la han conservado de sus cosechas por generaciones (Castillo *et al.*, 2000; Herrera *et al.*, 2000).

Las poblaciones nativas pueden definirse como un conjunto de individuos que se reproducen en un ambiente local, resultado de un proceso de selección dirigida por el agricultor para satisfacer sus necesidades de consumo, socioeconómicas y naturales de producción (Flores-Pérez *et al.*, 2015).

Las razones por las que los agricultores prefieren las variedades nativas son de índole social, económico, cultural y por el comportamiento agronómico superior al de las variedades mejoradas, ya que, potencialmente presentan ventajas en cuanto a diversidad y adaptabilidad climática sin que se vea afectado su desarrollo y rendimiento (plasticidad) (Ruiz *et al.*, 2011).

Wellhausen *et al.* (1951), mediante las características morfológicas de los caracteres de la planta, espiga y mazorca; además de los genéticos, citológicos y fisiológicos, lograron describir las 25 primeras razas mexicanas las cuales se clasificaron en cuatro complejos bien definidos: 1) Las Antiguas Indígenas, 2) Las Exóticas Precolombinas, 3) Mestizas Prehistóricas y 4) Modernas Incipientes.

Hernández y Alanís (1970) colectaron y estudiaron los maíces de la Sierra Madre Occidental. La clasificación se realizó mediante la caracterización morfológica e información etnobotánica, con la que determinaron la presencia de cinco razas nuevas para el Norte y Noreste de México: Gordo, Azul, Apachito, Bofo y Tablilla de Ocho.

Goodman (1972), Goodman y Bird (1977) corroboraron grupos propuestos por Wellhausen *et al.* (1951) mediante la caracterización morfológica, implementado los componentes de la varianza y el criterio de repetibilidad para determinar los caracteres morfológicos más útiles para la descripción racial.

Ortega (1985) utilizando los caracteres morfológicos, mostró la existencia de cinco razas que no habían sido descritas: Ratón, Tuxpeño, Tuxpeño Norteño, Onaveño, Cristalino de Chihuahua y Palomero de Chihuahua.

Goodman y Brown (1988) mediante las técnicas isoenzimáticas (ISO) definen tres grupos de acuerdo con la forma de la mazorca: 1) Agrupa las razas que tienen mazorcas largas y angostas, y se encuentra en el noreste de México, 2) Contiene las razas de mazorca cónica, encontradas en México en elevaciones altas y 3) Considera las razas con mazorcas largas y pequeñas, se encuentran en tierras bajas en el Pacífico.

Sánchez (1989) empleó las técnicas isoenzimáticas (ISO) y logró caracterizar las siguientes razas; Zamorano Amarillo, Mushito, Dulcillo del Noroeste, Blandito, Coscomatepec, Motozinteco y Elotero de Sinaloa.

Sánchez *et at.* (2000) usando las frecuencias alélicas de las técnicas isoenzimáticas (ISO) y las características morfológicas definieron cuatro grupos de acuerdo con los coeficientes de su similitud.

Diversidad de maíces nativos en Coahuila, México

Rincón *et al.* (2010) recolectaron muestras de 90 poblaciones de maíz en 23 municipios del estado, proporcionadas por 75 agricultores en 70 localidades. La clasificación racial fue realizada mediante la caracterización morfológica con caracteres de la mazorca y grano, además de un análisis sistemático basado en la taxonomía numérica. Los resultados indicaron que en el 74.5 % de ellas se encontró la presencia de siete grupos raciales: Celaya, Cónico Norteño, Elotes Cónicos, Olotillo, Ratón, Tuxpeño y Tuxpeño Norteño, de las cuales las más importantes son: Cónico Norteño (21.1 %), Ratón (26.7 %) y Tuxpeño Norteño (20.0 %). También se identificaron formas intermedias entre grupos raciales en un 25.5 % de las poblaciones, lo cual en conjunto determinan la diversidad del maíz en Coahuila.

Rincón y Ruiz (2015) analizaron 232 poblaciones de maíces nativos en Coahuila, procedentes de diferentes altitudes desde los 231 hasta 2,568 m. Mediante la clasificación por zonas de altitud del sitio de procedencia, la diversidad estuvo representada principalmente por cuatro grupos raciales: Ratón (34.9%), Tuxpeño (10.3%), Tuxpeño Norteño (19%) y Cónico Norteño (26.3%).

Rincón y Ruiz (2018) analizaron la diversidad de maíz en el sureste del estado de Coahuila en México e identificaron un subconjunto para representar la diversidad de dicha región. Emplearon 77 poblaciones y las caracterizaron con base en los caracteres de la mazorca y el grano, que representaron a los complejos raciales Celaya, Olotillo, Cónico, Cónico Norteño, Elotes Cónicos, Elotes Occidentales, Ratón, Tuxpeño y Tuxpeño Norteño.

Descripción de la diversidad del maíz

La descripción para la identificación y agrupación racial dentro y entre poblaciones de maíz se puede realizar mediante el uso de marcadores morfológicos, bioquímicos y moleculares.

Caracterización morfológica

Las mediciones y análisis de los caracteres morfológicos (planta, espiga, mazorca y grano) de las razas de maíz, son de gran utilidad para conocer la

variación genética existente entre razas, dentro de razas y entre poblaciones nativas y al mismo tiempo evaluar su potencial agronómico y la estabilidad a través de los ambientes de producción (Berardo *et al.*, 2009; Flores-Pérez *et al.*, 2015).

La descripción morfológica mediante descriptores consiste en registrar todos los caracteres que son altamente heredables, visibles a simple vista y que se expresan en todos los ambientes (IBPGR, 1991).

Las características visibles de una especie no se expresan con la misma intensidad y algunos individuos de la población pueden presentar diferentes grados de expresión que se traducen en diferentes tipos de datos o categorías de variables (Franco e Hidalgo, 2003).

Este tipo de datos se conocen como cuantitativos porque requieren de una medición precisa, por lo tanto, muestran variación continua y distribución normal ya que describen las propiedades físicas de la estructura de la planta, mazorca y grano. Para el caso de los cualitativos su comportamiento es categórico, debido a que se refieren a la presencia/ausencia, colores, formas y texturas y se registran por la simple observación (Sneath y Sokal, 1973).

Una vez que se obtiene la información de la caracterización se construye una matriz de datos, la cual es fundamental para la aplicación de las herramientas estadísticas. Los datos se pueden analizar mediante el uso de métodos simples o complejos que van desde el uso de gráficos y estadísticos de tendencia central y dispersión hasta los multivariados para establecer las ordenación y relación entre las accesiones y las variables en estudio (Franco e Hidalgo, 2003).

Caracterización genética

Se han llevado a cabo estudios sobre la diversidad genética del maíz mediante el uso de los marcadores moleculares, los cuales son de gran utilidad debido a la cantidad de polimorfismos distribuidos en el genoma, la rapidez y calidad de datos generados (Govindaraj *et al.*, 2015).

Un marcador molecular es una secuencia de ADN con una ubicación cromosómica conocida que controla un gen o carácter en particular (Nadeem *et al.*, 2018). Los marcadores de Diversity Array Technology (DArT) y los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) actualmente son los marcadores comúnmente utilizados para la determinación de la diversidad genética en varios cultivos (Baloch *et al.*, 2017).

Los SNPs son cambios en un par de bases presentes en la secuencia del genoma de un individuo. Los SNPs pueden ser transiciones (C/T o G/A) o transversiones (C/G, A/T, C/A o T/G) sobre la base de la sustitución de nucleótidos. Los SNP están presentes en abundancia en plantas y animales y la frecuencia en las plantas oscila entre un SNP cada 100-300 pb (Xu, 2010).

La identificación de los SNP se logra mediante el análisis de datos de secuencia almacenados en bases de datos. Se han desarrollado un gran número de métodos para el genotipado de SNPs basados en diferentes técnicas de discriminación alélica y plataformas de detección.

Entre ellos, los más importantes son la extensión de cebadores, la escisión invasiva, la ligadura de oligonucleótidos y la hibridación específica de alelos (Sobrino *et al.*, 2005). Varios métodos recientes de genotipado de alto rendimiento como la secuenciación de siguiente generación (Next Generation Sequencing (NGS)), genotipado por secuenciación (Genotyping By Sequencing (GBS)) y los NGS basados en chips, la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) específica de alelos, hacen que los SNPs sean los marcadores más atractivos para el genotipado (Agarwal *et al.*, 2008).

El método de genotipificación por la plataforma DArTseq fue desarrollado por la empresa Diversity Arrays Technology de Australia, y permite la identificación de decenas o inclusive centenas de miles de polimorfismos a partir de una muestra genómica. DArTseq se ha desarrollado con un enfoque técnicamente simple, altamente multiplexado que hace posible omitir el paso de desarrollo del ensayo, no sólo para descubrir, sino también, para la clasificación directa de los polimorfismos de ADN (Sansaloni *et al.*, 2011). Esta técnica está basada en la

reducción de la complejidad del genoma por medio de la combinación de dos enzimas de restricción, y en la utilización de “barcodes” un tipo código de barras que permiten el genotipado de múltiples muestras en paralelo obteniendo marcadores de alta densidad (Kilian *et al.*, 2012).

DARtseq ofrece un perfil genómico a través de la generación de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) de alta densidad, y también la identificación de variaciones de presencia y ausencia (PAV), pudiéndose obtener de 40,000 a 200,000 marcadores de este tipo (Sansaloni *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2016).

La tecnología DARtseq ofrece ventajas como alto rendimiento a bajo costo, no hay necesidad de información de secuencia previa para la detección de loci para un rasgo de interés, además permite estudiar la diversidad genética de grandes entradas de números y genomas complejos (Chen *et al.*, 2018; Nadeem *et al.*, 2018).

Para analizar la variabilidad genética existen diversos procedimientos que simplifican la información en términos de estimaciones manejables. En este sentido, los parámetros que miden el índice de diversidad son los siguientes: Polimorfismo, Contenido de información Polimórfica (PIC), Heterocigosidad esperada (H_e), Heterocigosidad observada (H_o), Número de alelos efectivos (A_e) y Alelos raros (R_i) (Pacheco *et al.*, 2020).

Características de la raza Ratón

La dispersión de las razas de maíz en México sucedió en cinco direcciones, dos hacia el Sur y tres hacia el 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 (Ortega *et al.*, 2013).

La información disponible indica que se distribuye en los estados de Tamaulipas, Nuevo León, Coahuila, Chihuahua, Durango, Zacatecas y San Luis Potosí, también, recientemente se reporta en algunas zonas de Veracruz, Guerrero y Morelos (CONABIO, 2011).

De acuerdo con Ortega (1985) los posibles progenitores de la raza Ratón son Nal-Tel y Tuxpeño, dado que las características morfológicas de planta y espiga se parecen a Nal-Tel y las de mazorca y grano se asemejan a Tuxpeño. Las principales características morfológicas de la raza Ratón son: periodo vegetativo corto con inicio de floración a los 54-60 días, plantas de porte bajo de 2.5 a 3 metros; hojas con una longitud de 90 cm; espigas cortas con numerosas ramificaciones; mazorcas de forma semi-cilíndricas con 12 a 16 hileras de granos; grano de tamaño medio y textura dentada, en los que predomina el color blanco, aunque se llegan a encontrar de color amarillo y azul oscuro, debido a la infiltración génica de otras razas. Esta raza posee características deseables para el mejoramiento genético tales como: precocidad, estabilidad en rendimiento, resistencia a la sequía, tendencia al cuateo y poco sensible al fotoperiodo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Parte 1 Caracterización morfológica

Material vegetal

El estudio comprendió 83 poblaciones nativas de maíz de la raza Ratón recolectadas en el estado de Coahuila (Cuadro 1), procedentes de la colección del Centro de Conservación de Semillas Ortodoxas, ubicado en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Cuadro 1. Clasificación racial y frecuencia de las 83 poblaciones de la raza Ratón de maíz con base en la altitud del sitio de colecta, Coahuila, México.

Clasificación racial [†]	Altitud en msnm			Total
	Bajo (<1000)	Intermedio (1001-1800)	Transición (1801-2000)	
Ratón	16	35	3	54
Ratón x Cónico		1		1
Ratón x Cónico Norteño		3	1	4
Ratón x Elotes Cónicos		1		1
Ratón x Olotillo	1	1		2
Ratón x Tuxpeño	10	4		14
Ratón x Tuxpeño Norteño	2	5		7
Total	29	50	4	83

[†] x = Indica algún grado de combinación o forma intermedia entre los dos grupos raciales.

Ubicación del sitio experimental

La evaluación agronómica se realizó en dos años (2020 y 2021) en dos localidades contrastantes: General Cepeda, Coahuila (25° 26' LN; 101° 27' LO, altitud 1350 m, temperatura media anual de 18.4 ° C y precipitación media anual de 279.9 mm), y en el Ejido El Mezquite, Galeana, Nuevo León (25° 18' LN; 101° 16' LO, altitud 1890 m, temperatura media anual de 15.5° C y precipitación media anual de 416.4 mm).

Diseño experimental

El material experimental fue establecido bajo un diseño de bloques incompletos con arreglo α -lattice, en experimentos repetidos en dos fechas de siembra con dos repeticiones cada uno, en surcos de 4 m de largo a una distancia entre

plantas de 0.2 m, y entre surcos de 0.85 m. Se sembraron 30 semillas por cada unidad experimental, para finalmente contar con 22 plantas, lo que resultó en una densidad de plantación de 61,919 plantas por ha⁻¹.

Fertilización

Se utilizó una dosis de fertilización de 120-60-60 en las dos localidades de estudio. Se aplicó la mitad de Nitrógeno con todo el Fósforo y Potasio a la siembra con fertilizante fórmula 17 – 17 – 17; la otra mitad del Nitrógeno se aplicó al cultivo con Urea (46-00-00).

Riegos

En las dos localidades se sembró en húmedo. Posteriormente, el número de riegos estuvo en función de las condiciones meteorológicas de cada localidad.

Labores culturales

Las labores culturales, aplicación de herbicidas y pesticidas para el cultivo, se realizaron de acuerdo con las necesidades del cultivo en cada localidad.

Caracteres evaluados

Caracteres agronómicos

Para los dos años de evaluación, se obtuvo datos promedio por parcela, para obtener la siguiente información:

Floración masculina y femenina (FM, FF): número de días desde la siembra hasta que el 50 % de las plantas han liberado polen y han emergido los estigmas, respectivamente.

Asincronía de floración ASI (días): fue estimado como la diferencia entre días a floración masculina y días a floración femenina.

Prolificidad (PRO): se determinó dividiendo el número de mazorcas entre el número de plantas por unidad experimental.

Humedad de grano en campo (HUM): el contenido de humedad en el grano se estimó al momento de la cosecha. La medida se obtuvo con el determinador de humedad portátil (Dickey John), a partir de una muestra aleatoria de grano de

varias mazorcas de cada unidad experimental, el resultado se expresó en porcentaje.

Rendimiento de grano (REND): se obtuvo de multiplicar el valor del peso seco (PS) por un factor de conversión (FC) de la superficie de la parcela experimental a una hectárea. Este valor se multiplicó por el porcentaje de desgrane para obtener el rendimiento de grano.

El PS fue estimado multiplicando el peso de campo (PC) por el porcentaje de grano seco $(1 - \frac{H}{100})$.

$$PS = PC \times (1 - \frac{H}{100})$$

El factor de conversión se calculó de la siguiente manera:

$$FC = \left(\frac{100}{85} \times \frac{10000}{APU} \right) / 1000$$

Donde: Área de parcela útil (APU): se calculó como el producto de la distancia entre surcos por la longitud del surco; 100/85: coeficiente para obtener el rendimiento al 15 % de humedad; 1000: constante usada para calcular el rendimiento en t ha⁻¹; 10000: superficie de una hectárea en m².

Número de plantas (PTS): número total de plantas por unidad experimental antes de la cosecha; este dato se utilizó en el cálculo de cobertura de mazorca, prolificidad y rendimiento de grano.

Número de mazorcas (MAZ): número total de mazorcas cosechadas por unidad experimental; este dato se usó para el cálculo de prolificidad y mazorcas podridas.

Peso de campo (PC): es el peso de las mazorcas de cada unidad experimental al momento de la cosecha, expresado en kilogramos. Este dato fue utilizado para el cálculo de rendimiento.

Descripción morfológica

La caracterización morfológica se realizó con valores promedio de plantas por parcela mediante los descriptores de maíz (IBPGR, 1991).

Caracteres de la planta

Para la toma de datos de estas variables, en los dos años de evaluación se seleccionaron tres plantas representativas en cada parcela (unidad experimental).

Altura de planta y de mazorca (APTA, AMAZ): se midió desde el ras del suelo hasta el punto donde la espiga empieza a ramificarse y de la base de la planta al nudo de inserción de la mazorca superior, respectivamente.

Hojas arriba de la mazorca (HAMAZ): se contó el número de hojas presentes arriba de la mazorca superior.

Longitud de hoja (LHOJA): se midió desde la lígula hasta el ápice de la lámina foliar que sobresale de la mazorca superior, las mediciones se realizaron después de la floración, expresado en cm.

Ancho de la hoja (AHOJA): se midió del punto medio de la longitud de la lámina foliar, las mediciones se realizaron después de la floración, expresado en cm.

Índices calculados con los datos de la planta

Índice de área foliar (IAF): se calculó multiplicando (largo x ancho x 0.75), de la hoja utilizada anteriormente (Elings, 2000).

Relación altura de planta/mazorca (APTA/AMAZ): se determinó dividiendo la altura de mazorca entre la altura de planta.

Relación altura de mazorca/planta (AMAZ/APTA): se obtuvo dividiendo la altura de mazorca entre la altura de planta.

Caracteres de la espiga

Número de ramificaciones primarias de la espiga (NESP): se contó el número total de ramificaciones primarias de la espiga.

Longitud de pedúnculo de la espiga (LPED): se midió en cm, desde el nudo de la hoja bandera hasta donde comienza la parte ramificada.

Longitud de parte ramificada (LRAM): se midió en cm, desde donde comienza y donde termina la ramificación de la espiga.

Longitud de raquis central (LRC): se midió en cm, desde donde termina la parte ramificada hasta la punta del raquis central.

Longitud total de espiga (LESP): se calculó sumando las longitudes de pedúnculo, parte ramificada y raquis central.

Índices calculados con datos de la espiga

Relación longitud de ramificada/número de espiguillas primarias (LRAM/NESP): se estableció dividiendo la longitud de la parte ramificada entre el número de espiguillas primarias.

Relación longitud de parte ramificada/espiga (LRAM/LESP): se calculó dividiendo la longitud de parte ramificada entre la longitud de espiga.

Relación longitud de pedúnculo/espiga (LPED/LESP): se determinó dividiendo la longitud de pedúnculo entre la longitud de espiga.

Relación longitud de raquis central/espiga (LRC/LESP): se obtuvo dividiendo la longitud del raquis central entre la longitud de espiga.

Caracteres de la mazorca

Los datos de la mazorca fueron obtenidos de tres mazorcas representativas, completas y sanas de cada unidad experimental.

Número de hileras en la mazorca (HIL): se contó el número de hileras de granos en la parte central de cada mazorca.

Granos por hilera (GHIL): se contó el número total de granos en una hilera completa y representativa en cada mazorca.

Longitud de mazorca (LMAZ): se midió la longitud de la base al ápice de la mazorca, en cm.

Diámetro de mazorca (DMAZ): se midió el diámetro de la parte central de la mazorca, en cm.

Peso de la mazorca (PMAZ): cada mazorca antes de desgranarse se le tomó su peso en g.

Diámetro de olote (DOLO): se midió en cm, diámetro de la parte media del olote de las mazorcas utilizadas anteriormente.

Porcentaje de desgrane (DESG) (%): se calculó dividiendo el peso de semilla entre el peso de mazorca y multiplicado por 100.

Superficie de mazorca (SUPMAZ): se determinó multiplicando ($3.141592 \times$ diámetro de mazorca \times longitud de mazorca), expresado en cm^3 (Goodman y Paterniani, 1969).

Índices calculados con datos de la mazorca

Relación diámetro/longitud de mazorca (DMAZ/LMAZ): se obtuvo dividiendo el diámetro de mazorca entre longitud de mazorca.

Relación diámetro de olote/diámetro de mazorca (DOLO/DMAZ): se calculó dividiendo el diámetro de olote entre el diámetro de mazorca.

Caracteres del grano

Contenido de humedad del grano (HUMG): se determinó a base de secado en la estufa por el método de la International Seed Testing Association (ISTA, 2009).

Dimensiones del grano: se obtuvo mediciones de 10 granos consecutivos de una hilera en el punto medio de cada mazorca, para determinar en promedio la

longitud de grano (LG), ancho de grano (AG) y espesor de grano (EG) expresado en (cm).

Peso de 100 semillas (PS100): se utilizó el peso de 10 semillas para determinar el peso y la suma se multiplicó por 10, ajustado a un contenido de humedad del 12 %, con la finalidad de estimar el peso de 100 semillas en g.

Volumen de grano (VGRANO): se calculó multiplicando (longitud de grano x ancho de grano x espesor de grano), expresado en cm^3 .

Índices calculados con los datos del grano

Relación ancho/longitud de grano (AG/LG): se determinó dividiendo al ancho de grano entre longitud de grano.

Relación espesor/longitud de grano (EG/LG): se calculó dividiendo el espesor entre longitud de grano.

Relación espesor/ancho de grano (EG/AG): se obtuvo dividiendo el espesor entre el ancho de grano.

Análisis de la información para la descripción morfológica

El análisis de datos de la caracterización se realizó mediante un análisis de varianza con el procedimiento PROC GLM de SAS (SAS Institute, 2013), mediante el cual se probaron los efectos de poblaciones y las interacciones con los ambientes de evaluación. Para el análisis de la información de los caracteres morfológicos se utilizó el modelo lineal:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + R_{j(i)} + B_k(A_i R_j) + G_l + A_i G_l + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde: Y_{ijkl} = Variable de respuesta; μ = Efecto de la media general; A_i = Efecto del i -ésimo ambiente; $R_{j(i)}$ = Efecto de la j -ésima repetición dentro del i -ésimo ambiente; $B_k(A_i R_j)$ = Efecto del k -ésimo bloque dentro del i -ésimo ambiente por la j -ésima repetición; G_l = Efecto del l -ésimo genotipo o población; $A_i G_l$ = Efecto de la interacción del i -ésimo ambiente por el l -ésimo genotipo; ε_{ijkl} = Error experimental.

Selección de caracteres para la clasificación

Para la selección de variables usadas en la clasificación racial, se utilizó el criterio dado por Goodman y Paterniani (1969), que indican que los caracteres más apropiados para la clasificación taxonómica son aquellos que presentan los valores más altos de la relación “r” (repetibilidad).

$$r = \frac{\sigma^2_p}{\sigma^2_a + \sigma^2_{p \times a}}$$

Donde: σ^2_p y σ^2_a son los estimadores de los componentes de varianza debido a las diferencias entre las poblaciones y ambientes; $\sigma^2_{p \times a}$ es el estimador del componente de varianza de la interacción entre poblaciones y ambientes. La regla de decisión consistió en aceptar los caracteres cuya relación (r) fuera mayor a uno ($r > 1.0$), porque valores mayores a la unidad significa que es mayor la variación de los efectos genéticos que la de los efectos ambientales y la interacción juntos.

Los estimadores de los componentes de varianza se realizaron con el procedimiento PROC MIXED de SAS (SAS Institute, 2013). Los promedios de 19 caracteres previamente seleccionados se estandarizaron restando la media de cada carácter y dividiendo por su desviación estándar antes de calcular las asociaciones entre las poblaciones.

Análisis de dispersión y clasificación

El análisis de agrupamiento y distribución de la diversidad de las poblaciones de maíz consistió en el análisis de componentes principales (ACP) y análisis de conglomerados, basados en las medias de colectas a través de ambientes, para las variables que se consideraron como apropiadas para la valoración de la diversidad genética. Con los datos de las 83 poblaciones evaluadas, se analizaron los promedios de 10 caracteres y nueve índices los cuales fueron seleccionados por el criterio $r > 1.0$.

El análisis de componentes principales se realizó con la función PCA de la librería FactoMineR (Le *et al.*, 2008) y la función fviz_pca_biplot de la librería Factoextra (Alboukadel y Mundt, 2020) del paquete estadístico R (R Core Team, 2020).

Se calculó un coeficiente de distancia (disimilitud) definido por el complemento de la correlación producto-momento de Pearson entre pares de poblaciones ($d_{ij} = 1 - r$) con la función get_dist de la librería Factoextra (Alboukadel y Mundt, 2020). Con las funciones hclust de la librería cluster (Maechler *et al.*, 2022) y plot de la librería ggplot2 (Wickham, 2016), se obtuvo el análisis de conglomerados jerárquico, a través del método de grupo de pares no ponderados utilizando promedios aritméticos (UPGMA) para obtener las relaciones entre poblaciones (Sneath y Sokal, 1973) todo con el software de R (R Core Team, 2020).

Subconjunto representativo

Con base en el dendrograma se realizó un muestreo estratificado y direccional modificado. Este proceso se inició discriminando poblaciones con los valores más bajos de las distancias entre pares de poblaciones dentro de grupos. Después de cada ronda se creó un dendrograma nuevo, este proceso se realizó repetidamente hasta que se obtuvo un subconjunto representativo de todas las poblaciones evaluadas. El muestreo direccional modificado significa que se hizo uso de una imagen representativa del tipo de mazorca de cada unidad experimental. De esta manera se tendría una muestra más representativa (Rincón *et al.*, 1996; Rincón-Sánchez y Ruiz-Torres 2018).

Parte 2 Caracterización genética

Material vegetal

En este estudio se analizaron 81 poblaciones nativas de maíz de la raza Ratón recolectadas en el estado de Coahuila, procedentes de la colección del Centro de Conservación de Semillas Ortodoxas ubicado en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Ubicación del sitio experimental

La caracterización genotípica de las poblaciones evaluadas se realizó en el Laboratorio de Servicio de Análisis Genético para la Agricultura (SAGA), del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), ubicado en carretera México-Veracruz Km. 45, El Batán, Texcoco, México.

Extracción de ADN genómico

Obtención de muestras de tejido foliar

Se sembraron 30 semillas representativas de cada una de las poblaciones de maíz. Posteriormente a los 15 días de comenzada la germinación se seleccionaron 15 plántulas, de cada población para luego tomar una fracción de 10 a 15 cm de hojas frescas y jóvenes sin zonas necróticas ni lesiones.

Liofilización

Las muestras de cada población se colocaron en glassines a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Luego el material foliar fue colocado en una liofilizadora (Labconco™, modelo 230 v), en condiciones de vacío a ≤ 100 micrones durante cinco días a una temperatura de condensador de $\leq 50\text{ }^{\circ}\text{C}$. Finalmente, las muestras se secaron por 72 horas y se conservaron en bolsas de plástico cerradas a temperatura ambiente.

Molienda

El tejido vegetal liofilizado se dividió en fracciones de 0.5 a 1.5 cm y se colocó en tubos de extracción de 1.5 ml, junto con dos balines de acero inoxidable. Las muestras se colocaron en un molino mecánico (SPEX™ Geno/Grinder) por dos minutos a 1650 revoluciones por minutos (rpm) hasta obtener un polvo fino.

Extracción de ADN

Basado en el método de Saghai-Maroo *et al.* (1984), al tejido previamente liofilizado y molido se le agregó 400 μl de solución buffer amortiguadora CTAB (Bromuro de hexadeciltrimetilamonio) para extracción. Las muestras fueron incubadas a 65°C durante 90 minutos en un agitador orbital (Fisher Scientific). Los tubos fueron puestos a temperatura ambiente durante cinco minutos, se le

agregaron 4.5 ml cloroformo/octanol (24:1) y se colocó nuevamente en el agitador orbital por 20 minutos a temperatura ambiente, se centrifugó a 3750 rpm a temperatura ambiente por 30 minutos (Beckman Coulter Allegra® x-15R Centrifuge). En tubos nuevos de 1.5 ml se pasó el sobrenadante y se agregaron 300 µl de isopropanol agitándolos suavemente para mezclar el contenido. Se incubaron por 60 minutos a -20 °C, luego se centrifugaron durante 30 minutos a 3750 revoluciones por minuto a 4 °C. Se desechó el isopropanol y se adicionó etanol al 70% centrifugándose la solución por 20 minutos a 3750 revoluciones por minuto. Luego se volvió a decantar el isopropanol sobrante, el mismo procedimiento se repitió una vez más hasta que los tubos quedaron con el menor volumen y se dejaron secar abiertos en la campana durante 24 horas. Se agregó H₂O₂, se incubaron los tubos a 65°C por un período de 20 minutos y se les dio un pequeño vortex. Finalmente, el ADN resultante se almacenó a 4 °C.

Verificación de la calidad del ADN genómico

Para evaluar la calidad del ADN se prepararon concentraciones de 50 ng/µl por muestra. Posteriormente se cargó una solución de 10 µl de ADN y 30 µl de bromuro de etidio en ocho placas en un pocillo de un gel de agarosa al 0.8%, además de un marcador (leader) de peso molecular (PhiX174/HaeIII). Se corrió la electroforesis a 120 volts por 20 minutos, y se visualizaron los pesos moleculares de las muestras de ADN utilizando un sistema de documentación en gel (BioDocAnalyze Live, Biometría).

Preparación del ADN templado por el método DArTseq

Reducción de complejidad genómica

Mediante el método de reducción de complejidad descrito por Sansaloni *et al.* (2011), se utilizaron dos enzimas de restricción sensibles a metilación, una de corte específico o raro *Pst*-I (CTGCAG), y la segunda de corte frecuente *Nsp*-I (CATG) preparadas en soluciones de digestión (Cuadro 2). Con este proceso se crearon fragmentos de ADN que se muestran como una representación genómica de las poblaciones evaluadas para la posterior identificación de los marcadores moleculares a través del método DArTseq (Sansaloni *et al.*, 2011).

En cada placa de 96 pocillos se dejaron vacíos en dos posiciones, G12 y H12, como controles negativos, así como también se replicó el 16% de las muestras para evaluar la reproducibilidad de datos genotípicos finales, tal como lo indica el protocolo de esta tecnología.

Cuadro 2. Soluciones y sus concentraciones para la digestión del ADN genómico.

Unidad	Cantidad	50 de RXN (µl)
H ₂ O _{dd}	50 µl	50.0
Amortiguador 10X para <i>Nsp</i> -I	1X	5.0
<i>Nsp</i> -I (5 U/ µl)	2.5 U/ µg de ADN	0.5
ADN genómico (0.3 µg/ µl)	1 µg	4.5
<i>Pst</i> -I (10 U/ µl)	2.5 U/ µg de ADN	0.2
NaCl (2.5 M)	50 µM	1.0

H₂O_{dd}= Agua bidestilada; NaCl= Cloruro de Sodio; µl= Microlitros; µg= Microgramo; µM=Micromolar; X= Cantidad ajustada; RXN= Mezcla; *Nsp*-I= Enzima de corte frecuente; *Pst*-I= Enzima de corte específico.

Con los fragmentos resultantes de la digestión se llevó a cabo la ligación de fragmentos específicos para la enzima *Pst*-I con un adaptador de sitio específico etiquetado con 96 códigos de barras diferentes (barcodes). Finalmente, la ligación y digestión mezcladas fueron colocadas individualmente en cada pocillo de placas de 96 muestras (Eppendorftwin.tec®, PCR plate 96), en un volumen final de 20 µl por pocillo, incubadas en el termociclador (Ramse, Minnesota, USA) por un periodo de tres horas a 37 °C y 20 minutos a 60 °C. Para la ligación del ADN genómico fueron empleadas soluciones y concentraciones que se presentan en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Soluciones y sus concentraciones para la ligación del ADN genómico.

Solución	Cantidad	Volúmenes 10 de RXN (µl)
H ₂ O _{dd}		5
Amortiguador de ligazón (5X)	1X	2
Adaptador <i>Nsp</i> -I (50 µM)	50 pmoles	1
Adaptador <i>Pst</i> -I (5 µM)	5 pmoles	1
Ligasa ADN T4 (1 U/ µl)	1 U	1

H₂O_{dd}= Agua bidestilada; µl= Microlitros; pmoles= Concentración molar; µM=Micromolar; X= Cantidad ajustada; U= Unidad; RXN= Mezcla; *Nsp*-I= Enzima de corte frecuente; *Pst*-I= Enzima de corte específico.

Amplificación por PCR

Para la amplificación por Reacción en cadena de Polimerasa (Polymerase Chain Reaction-PCR) (Cuadro 4), se tomaron 10 μ l de la reacción de digestión/ligación y se le agrego un iniciador hacia adelante (5'-CGCCAAATGACGACTTCTAC-3') y un iniciador reverso (3'-GCGCATAACGATACCACTGA-5') con un volumen final de 35 μ l. Estos iniciadores tienen la posición 1547 y 2050 del plásmido Phy y amplifican un fragmento de 523 pares de bases (pb). Esta reacción fue puesta en un termociclador MJ Research (Ramse, Minnesota, USA) con las siguientes condiciones: se tuvo un ciclo inicial de 1 minuto de desnaturalización a 94 °C, para la alineación fue de 20 segundos a 94 °C, 30 segundos a 58 °C y 45 segundos a 94 °C y una elongación de siete minutos a 72 °C por 30 ciclos, para después dejarse en reposo a 10 °C por cinco minutos.

Cuadro 4. Componentes y concentraciones para la PCR.

Cantidad	Final	10 RXN (μl)
ddH ₂ O1		0.05
5X Green	1X	2.00
25 Mm mGCl ₂ 2	1.5 mM	0.60
Mezcla de dNTP (2.5 Mm)	200 μ M	0.80
Iniciador F + R (1.0 μ M)3	0.25 μ M	2.50
Go taq (®DNA Polymerase (5U/ μ l)	0.25 U	0.05
DNA (10-50 ng/ μ l)	50-100 ng	4.00

ddH₂O1= Agua destilada; μ l= Microlitros; ng= Nanogramo; μ M=Micromolar; X= Cantidad ajustada; RXN= Mezcla; *Nsp-I*= Enzima de corte frecuente; *Pst-I*= Enzima de corte específico; dNTP= 5'-trifosfato de deoxinecleósidos; F+R; Iniciador hacia adelante + iniciador reverso.

Revisión de calidad

Para llevar a cabo el control de calidad los productos de la PCR se verificaron por electroforesis en un gel de agarosa a 1.2% de concentración, mediante un campo electroforético de 120 volts/ 20 minutos. En este proceso se tuvo como criterio la obtención de un pequeño barrido de ADN que indicaba el tamaño y la calidad de los fragmentos, descartando los que no cumplieron con dicho criterio.

Mezclado purificación y cuantificación

En este paso se llevó a cabo el agrupamiento de los productos de PCR en una solución mezcla. Se tomaron 10 µl de producto PCR de cada pocillo de una placa y se mezclaron en un tubo de dos ml. Para la purificación de los productos PCR agrupados en cada una de las soluciones mezcla, se utilizó el paquete comercial (*QIAquick PCR Purification*) de la marca QUIAGEN®. También se realizó el último control de calidad por medio de electroforesis en gel de agarosa a una concentración de 1.2% para confirmar la presencia de ADN amplificado en forma de barrido, confirmando así la ausencia de fragmentos de tamaños prevaletentes. La cuantificación se realizó con UV, usando un espectrofotómetro NanoDrop 8000 (Termo Scientific, EUA.), para estimar la cantidad necesaria de ADN que se introduciría al secuenciador.

Secuenciación de fragmentos

Secuenciación por síntesis

Los productos de amplificación de cada muestra se agruparon por placa para clonarlos por medio de PCR en un equipo cBot (SY-301-2002, Illumina, San Diego, CA, EUA), el cual utiliza el proceso de amplificación por puente, lo que genero agrupamientos de fragmentos de acuerdo con la secuencia de estos. Por medio de la plataforma HiSeq 2500 se introdujeron los fragmentos creados a partir de la digestión de ADN y amplificados posteriormente en los canales de las celdas de flujo llamadas *flow-cell*. Los fragmentos templados fueron secuenciados por el extremo en que se encuentra un adaptador tipo código de barras (*bar code*) que permite identificar a que individuo pertenecen cada una de las lecturas (fragmentos) producidas por el secuenciador.

Obtención y análisis de datos

Identificación de marcadores

Terminada la secuenciación, se analizó la calidad de las lecturas mediante un *primary report* que permitió revisar la calidad de las imágenes tomadas por el secuenciador. Luego se realizó el filtrado o eliminación de los sitios de corte de

las enzimas, Pst-I (CTGCAG) y Nsp-I (CATG), y del código de barras que le asigna a cada fragmento su pertenencia a cada individuo.

Posteriormente, se realizó la identificación de los SNPs presentes en las poblaciones evaluadas a través del sistema analítico DArTsoft 14 desarrollado por la empresa Diversity Arrays Technology (DArT) en Camberra, Australia. Se obtuvieron como resultado los marcadores Silico-DArT (dominantes) y los marcadores SNPseq (codominantes) ambos expresados como datos binarios (1/0), indicando en el primer caso la variación de presencia/ausencia (PAV) del fragmento y la variación de un solo nucleótido en el segundo polimorfismo. Para este estudio se utilizaron solamente SNPs para los cuales el llamado es independiente del genoma de referencia por parte de esta tecnología. Aquí la identificación de los SNPs se realiza con base en una biblioteca propia, formada por todos los fragmentos producidos a partir de los diferentes germoplasmas de este cultivo.

Matriz de datos alélicos de SNPs

Tamizaje de datos

Para determinar la calidad de los marcadores SNPs a ser empleados en el análisis, se realizaron varios filtros para identificar aquellos con mejores propiedades, los que fueron tomados en cuenta para caracterizar y calificar a estos polimorfismos.

1. La frecuencia alélica fue estimada con el objetivo de obtener la proporción en la cual cada alelo marcador está presente con relación al total de marcadores, usando el paquete estadístico R (R Core Team, 2020).
2. El porcentaje de datos perdidos o tasa de llamada de SNPs consistió en ordenar de menor a mayor, para descartar aquellos valores menores del 75% mediante la librería *adegenet* en R (R Core Team, 2020).
3. Usando DArTsoft se obtuvo el porcentaje de Reproducibilidad, una vez presentados los resultados con Microsoft Excel 2016 se realizó un reordenamiento de menor a mayor para eliminar aquellos que tenían menos del 95% de reproducibilidad.

Análisis molecular de la varianza

El análisis molecular de la varianza se determinó con el software BIO-R v3.0 (Pacheco *et al.*, 2020), a partir de las frecuencias alélicas obtenidas anteriormente.

Análisis de diversidad genética

El análisis de la diversidad genética se realizó con la base de datos de las frecuencias alélicas, con el software BIO-R v3.0 (Pacheco *et al.*, 2020) y se representó mediante los siguientes parámetros:

Heterocigosidad

Este parámetro se puede estudiar como Heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e).

La H_o se calculó para cada población, como la media inter-loci de la frecuencia genotípica de los individuos heterocigotos mediante la expresión:

$$H_o = \frac{1}{L} \sum_i^L \frac{(N_{heterocigotos})_i}{N_i}$$

Donde: L es el número de loci analizado en la población objeto de estudio, $(N_{heterocigotos})_i$ es el número absoluto de individuos heterocigotos para el locus i y N_i es el número total de individuos analizados para el locus i .

La H_e de cada población es la media de los valores obtenidos para cada locus en dicha población y se calculó usando la siguiente fórmula:

$$H_e = \frac{1}{L} \sum_{j=1}^{nL} h_j$$

Donde: h_j es la Heterocigosidad por locus y L es el número total de loci. Los valores de H_e están entre 0 y 1 y un mínimo de 30 loci para ser analizados en 15 individuos por población, para reducir el riesgo de sesgo estadístico.

Número de alelos efectivos

Este parámetro se refiere al número de alelos que pueden estar presentes en una población.

$$Ae = \sum_{l=1}^L \frac{1}{1 - h_l} = \sum_{l=1}^L \frac{1}{\sum p_i^2}$$

Donde: p_i es la frecuencia en el alelo i th en un locus y $h_i = 1 - \sum p_i^2$ es la Heterocigosidad en un locus.

Índice de Shannon

El índice de Shannon explica tanto la abundancia como la uniformidad de las especies presentes.

$$SH = - \sum_{a=1}^A \hat{p}_a \log(\hat{p}_a)$$

Donde: \hat{p}_a es la frecuencia estimada del alelo a en toda la muestra y A es el número de alelos en la muestra.

Número de alelos raros

La rareza de una accesión se define como la especificidad promedio de los alelos que contiene.

$$R_j = \sum_{i=1}^k p_{ij} s_i$$

Dónde: k es el número total de alelos, p_{ij} la frecuencia alélica del i -ésimo alelo dentro de la accesión j .

Matriz de distancia genética

A partir de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) se estimaron las frecuencias alélicas presentes en cada una de las poblaciones de maíz evaluadas. Posteriormente, las frecuencias alélicas se utilizaron para computar la matriz de distancia genética de Rogers modificada (Wright, 1978), la cual se

determinó mediante el software BIO-R v 3.0 (Pacheco *et al.*, 2020), a partir de la siguiente fórmula:

$$MR_{xy} = \frac{\sqrt{\sum_{l=1}^L \sum_{a=1}^{n_l} (Plax - Play)^2}}{2L}$$

Donde: $Plax$ es la frecuencia estimada del alelo a , dentro del locus l , en el genotipo x ; L = el número de loci; n_l = el número de alelo dentro del locus; $Play$ es la frecuencia estimada del alelo a , dentro del locus l , en el genotipo y .

Ordenamiento de poblaciones

Se realizó la transformación de la matriz de distancia genética en forma de producto escalar para obtener sus valores propios y vectores característicos mediante un Análisis de Componentes Principales con la función PCA de la librería FactoMineR (Le *et al.*, 2008). Se utilizaron los dos primeros componentes principales para representar las poblaciones en un análisis de dispersión gráfica elaborado y la función `fviz_pca_biplot` de la librería Factoextra (Alboukadel y Mundt, 2020), con el paquete estadístico R (R Core Team, 2020).

Relación entre poblaciones

Para simplificar las relaciones entre las poblaciones evaluadas, a partir de la matriz de distancias genéticas de Rogers modificada (Wright, 1978) se realizó un análisis de conglomerados usando el método de Ward (Ward, 1963). Este análisis se realizó con la función `get_dist` de la librería Factoextra (Alboukadel y Mundt, 2020), `hclust` de la librería cluster (Maechler *et al.*, 2022) y `plot` de la librería ggplot2 (Wickham, 2016) con el software de R (R Core Team, 2020).

Subconjunto representativo

Mediante el algoritmo Core Hunter del software BIO-R v 3.0 (Pacheco *et al.*, 2020) se obtuvo un subconjunto representativo con las frecuencias alélicas de los SNPs. En la optimización, el tamaño del subconjunto fue del 20% y se maximizó la distancia promedio entre cada individuo seleccionado y el otro individuo seleccionado más cercano al núcleo.

Coeficientes de divergencia genética

Para verificar el patrón de diversidad entre los datos morfológicos y genéticos (SNPs) se realizó un análisis de correlación con las distancias morfológicas y genéticas.

A partir de los valores de 19 caracteres morfológicos seleccionados por su repetibilidad (> 1.0) y posteriormente estandarizados, se calculó un coeficiente de distancia fenotípica, obtenido por el complemento del coeficiente de correlación de Pearson entre pares de poblaciones ($d_{ij} = 1 - r$), con el que se obtuvo una matriz de distancias fenotípicas con el paquete estadístico R (R Core Team, 2020).

Con los valores de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) se estimaron las frecuencias alélicas asociadas a cada una de las poblaciones de maíz, con base en estas se determinó una matriz de distancia genética de Rogers modificada (Wright, 1978), la cual se realizó mediante el software BIO-R v 3.0 (Pacheco *et al.*, 2020).

Con la matriz de distancia genética y la matriz de distancia fenotípica, se realizó un análisis gráfico y de correlación con la función COR de la librería Factoextra (Alboukadel y Mundt, 2020) con el paquete estadístico R (R Core Team, 2020).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parte 1 Caracterización morfológica

Descripción morfológica

Las pruebas de significancia en las fuentes de variación para las variables de descripción morfológica a través de los ambientes de evaluación (2020 y 2021) se presentan en el Cuadro 5.

En ambientes se registró un comportamiento diferente ($p \leq 0.01$ y 0.05) en 29 variables, el resto no presentó significancia, debido a las condiciones climáticas y edáficas de las localidades y a los efectos de las fechas de siembra. Resultados similares observaron Gonzales-Martínez *et al.* (2020) mencionaron que los fenotipos se expresan de manera diferente, debido a que las localidades de evaluación son contrastantes principalmente en condiciones climáticas y edáficas.

Se encontraron diferencias ($p \leq 0.01$) entre las poblaciones, como un indicador de la variación morfológica y agronómica entre las poblaciones nativas de maíz evaluadas. Además, estas diferencias se deben al origen de procedencia (alturas de transición, intermedias y bajas) y a las combinaciones con otras razas como Tuxpeño, Tuxpeño Norteño y Cónico Norteño principalmente. Estos resultados concuerdan con Martínez-Sánchez *et al.* (2017) concluyeron que la variación identificada se atribuye a la selección natural y la artificial practicada por el agricultor para caracteres de interés.

Cuadro 5. Cuadrados medios del análisis de varianza de 83 poblaciones nativas de maíz de la raza Ratón de Coahuila, evaluadas en ambientes contrastantes en 2020 y 2021.

Variables	Fuentes de variación						Error	CV (%)
	A	R/A	B/RxA	P	PxA			
Caracteres agronómicos								
g.l	3	4	96	82	246	232		
FM(d)	41386.633 **	46.457 **	5.487	220.509 **	7.966 **	4.515	2.55	
FF (d)	40333.506 **	53.541 **	7.113 *	251.889 **	9.201 **	5.212	2.69	
ASIF(d)	10.058	2.279	1.329	3.269 **	1.441	1.445	74.87	
PRO (%)	0.439 **	0.011	0.013 *	0.017 **	0.012 *	0.009	8.66	
REND (t ha ⁻¹)	80.803 **	4.313	1.526 **	3.508 **	1.491 **	0.836	16.38	
Caracteres planta								
g.l	3	4	96	82	246	1295		
APTA (cm)	14012.270	3024.469	856.806 **	6127.643 **	530.448 **	145.417	6.01	
AMAZ (cm)	90162.413 **	4857.183 **	677.008 **	5717.253 **	378.275 **	119.777	9.46	
AMAZ/ APTA (cm)	1.674 **	0.059 **	0.006 **	0.031 **	0.005 **	0.002	8.14	
APTA/AMAZ (cm)	17.268 **	0.955 **	0.082 **	0.362 **	0.070 **	0.028	9.32	
LHOJA(cm)	7622.593 **	159.691	98.853 **	424.646 **	117.130 **	65.546	9.26	
AHOJA(cm)	66.709 *	5.948 *	1.513 **	3.841 **	0.930 **	0.681	9.9	
AF (cm ²)	216924.56	45727.300	14168.900 **	48242.365 **	11662.35 **	6803.980	15.05	
HAMAZ	28.770 **	0.882	0.395	1.508 **	0.456 **	0.356	12.42	
Caracteres espiga								
g.l	3	4	96	82	246	1228		
NESP	447.780 **	14.684	24.438 **	75.257 **	19.553 **	13.907	25.47	

LPED (cm)	483.998	**	17.365		19.063	**	59.448	**	15.016	**	11.610	16.12
LRAM (cm)	18.044		21.657		7.649	*	32.293	**	8.667	**	5.594	19.03
LRC (cm)	325.509	*	32.694		20.706	**	48.295	**	15.762	**	11.336	12.39
LESP (cm)	1693.687	**	84.039		53.675	**	157.420	**	46.129	**	27.987	8.71
LRAM/NESP (cm)	27.987	**	0.090		0.068		0.166	**	0.064		0.057	26.48
LPED/LESP (cm)	0.027		0.005		0.002	**	0.007	**	0.002	**	0.002	11.66
LRAM/LESP (cm)	0.015		0.004		0.002	**	0.008	**	0.002	**	0.001	17.66
LRC/LESP(cm)	0.003		0.002		0.003	**	0.006	**	0.003	**	0.002	10.14

Caracteres mazorca

	g.l		3		4		96		82		246		1440	
NHIL			12.693		4.540		3.039		17.185	**	3.469	**	2.662	12.35
GHIL			2061.677	**	18.262		29.689	**	68.636	**	24.198	**	18.437	14.00
PMAZ (g)			395343.916	**	2596.559		1253.315	**	3471.486	**	1410.796	**	423.586	16.41
LMAZ (cm)			482.825	**	3.604		5.064	**	9.063	**	4.306	**	1.944	9.96
DMAZ (cm)			19.153	**	0.232		0.137	**	0.707	**	0.143	**	0.076	6.30
SUPMAZ (cm ³)			247758.436	**	1152.030		1274.391	**	2788.118	**	1295.176	**	469.512	11.23
DMAZ/LMAZ (cm)			0.045	**	0.003		0.003	**	0.010	**	0.003	**	0.002	12.66
DOLO/DMAZ (cm)			0.160	**	0.005		0.003	**	0.017	**	0.003	**	0.002	7.84
DOLO (cm)			0.683		0.139		0.093	*	0.745	**	0.097	**	0.068	10.24
DESG (%)			0.114	**	0.001		0.001	*	0.010	**	0.002	**	0.001	3.99

Caracteres grano

	g.l		3		4		96		82		246		1440	
LG (cm)			2.400	**	0.056	*	0.014	**	0.043	**	0.012	**	0.007	7.28
AG (cm)			0.895	**	0.004		0.007	*	0.034	**	0.008	**	0.005	7.99
EG (cm)			0.165	**	0.003		0.002	**	0.006	**	0.002	**	0.002	10.12
VG (cm ³)			1.793	**	0.016		0.007	**	0.021	**	0.006	**	0.003	15.11
AG/LG(cm)			0.080		0.029	*	0.007		0.038	**	0.007	**	0.006	9.65

EG/LG(cm)	0.035 *	0.004	0.002	0.009 **	0.003 **	0.002	13.77
EG/AG(cm)	0.008	0.003	0.004 *	0.012 **	0.005 **	0.003	12.92
P100S (g)	8394.360 **	20.159	33.261 **	158.339 **	35.200 **	18.121	15.25

*, **, Significativo al 0.05 y 0.01 niveles de probabilidad, respectivamente; A= ambientes; R/A= repeticiones dentro de ambientes; B/RxA= bloques dentro de repeticiones por ambientes; P= poblaciones; PxA= poblaciones por ambientes; g.l= grados de libertad; FM= floración masculina; FF= floración femenina; ASIF= asincronía floral; PRO= prolificidad; REND= rendimiento de grano; APTA= altura de planta; AMAZ= altura de mazorca; LHOJA= longitud de la hoja; AHOJA= ancho de la hoja; AF= área foliar; HAMAZ= número de hojas arriba de la mazorca; NESP= número de espiguillas primarias; LPED= longitud de pedúnculo; LRAM= longitud parte ramificada; LRC= longitud de raquis central; LESP= longitud total de espiga; NHIL= número de hileras; GHIL= número de granos por hilera; LMAZ= longitud de mazorca; DMAZ= diámetro de mazorca; SUPMAZ= superficie de la mazorca; PMAZ= peso de la mazorca; DOLO= diámetro de olote; DESG= porcentaje de desgrane; LG= longitud de grano; AG= ancho de grano; EG= espesor de grano; VG= volumen del grano; P100S= peso de 100 semillas; CV= coeficiente de variación.

En la interacción poblaciones x ambientes en todas se mostraron diferencias ($p \leq 0.01$ y 0.05), excepto para asincronía floral (ASIF) y longitud de la parte ramificada/número de espiguillas primarias (LRAM/NESP), indicando el comportamiento relativo diferencial de las poblaciones en los ambientes de prueba. Lo anterior coincide con Rocandio-Rodríguez *et al.* (2014a) afirmaron que las diferencias encontradas muestran que los genotipos tienen una respuesta particular en cada una de las localidades del estudio.

Selección de caracteres para la clasificación

Los estimadores de componentes de varianza de los 40 caracteres evaluados en las 83 poblaciones de la raza Ratón de Coahuila, se presentan en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Estimadores de componentes de varianza para poblaciones, ambientes, interacción poblaciones x ambientes y repetibilidad.

Variables	σ_p^2	σ_a^2	$\sigma_{p \times a}^2$	r	
FM (d)	33.67870	294.74000	1.96720	0.114	
FF (d)	38.45650	287.10000	2.26890	0.133	
ASIF (d)	0.29200	0.05815	0.14650	1.427	*
PRO (%)	0.00109	0.00285	0.00085	0.294	
REND (t ha ⁻¹)	0.29530	0.59870	0.35040	0.311	
APTA (cm)	370.63000	24.29070	88.79290	3.277	*
AMAZ (cm)	348.01000	241.14000	57.15910	1.167	*
AMAZ/APTA (cm)	0.00166	0.00466	0.00044	0.326	
APTA/AMAZ (cm)	0.01892	0.04721	0.00871	0.338	
LHOJA (cm)	21.14190	20.72570	11.35060	0.659	
AHOJA (cm)	0.17650	0.19160	0.04650	0.741	
AF (cm ²)	2410.93000	463.03000	1104.01000	1.539	*
HAMAZ	0.07778	0.08505	0.02010	0.740	
NESP	4.01720	1.23660	0.86200	1.914	*
LPED (cm)	2.91310	1.43920	0.58370	1.440	*
LRAM (cm)	1.64720	0.00332	0.62490	2.622	*
LRC (cm)	2.17340	0.86650	0.85940	1.259	*
LESP (cm)	7.45220	5.02270	3.90070	0.835	
LRAM/NESP (cm)	0.00628	0.00680	0.00208	0.707	
LPED/LESP (cm)	0.00031	0.00007	0.00010	1.763	*
LRAM/LESP (cm)	0.00045	0.00003	0.00008	4.036	*
LRC/LESP (cm)	0.00020	0.00000	0.00008	2.452	*
NHIL	0.81470	0.04577	0.13480	4.512	*

GHIL	2.55210	5.55170	0.99130	0.390	
PMAZ (g)	113.10000	1020.48000	200.43000	0.093	
LMAZ (cm)	0.25210	1.28220	0.44810	0.146	
DMAZ (cm)	0.03617	0.04650	0.01327	0.605	
SUPMAZ (cm ³)	83.73710	638.03000	166.20000	0.104	
DMAZ/LMAZ (cm)	0.00044	0.00013	0.00016	1.509	*
DOLO/DMAZ (cm)	0.00083	0.00045	0.00013	1.447	*
DOLO (cm)	0.03907	0.00074	0.00563	6.134	*
DESG(%)	0.00055	0.00030	0.00012	1.317	*
LG (cm)	0.00181	0.00600	0.00106	0.256	
AG (cm)	0.00143	0.00242	0.00055	0.481	
EG (cm)	0.00019	0.00042	0.00014	0.347	
VG (cm ³)	0.00074	0.00466	0.00055	0.142	
AG/LG (cm)	0.00181	0.00013	0.00031	4.151	*
EG/LG (cm)	0.00033	0.00007	0.00021	1.164	*
EG/AG (cm)	0.00048	0.00001	0.00026	1.761	*
P100S (g)	3.14570	22.32640	3.14570	0.257	

*= variables seleccionadas; σ^2_p = componentes de varianza en poblaciones; σ^2_a = componentes de varianza en ambientes; $\sigma^2_{p \times a}$ =componentes de varianza de poblaciones x ambientes; r= repetibilidad; FM= floración masculina; FF= floración femenina; ASIF=Asincronía floral; PRO= prolificidad; REND= rendimiento de grano; APTA = altura de planta; AMAZ=altura de mazorca; LHOJA=longitud de la hoja; AHOJA=ancho de la hoja; AF=área foliar; HAMAZ= número de hojas arriba de la mazorca; NESP= número de espiguillas primarias; LPED=longitud de pedúnculo; LRAM=longitud parte ramificada; LRC=longitud de raquis central; LESP= longitud total de espiga; NHIL=número de hileras; GHIL=número de granos por hilera; LMAZ =longitud de mazorca; DMAZ=diámetro de mazorca; SUPMAZ= superficie de la mazorca; PMAZ= peso de la mazorca; DOLO=diámetro de olote; DESG= porcentaje de desgrane; LG=longitud de grano; AG=ancho de grano; EG=espesor de grano; VG= volumen del grano; P100S=peso de 100 semillas.

Es importante identificar aquellos caracteres con un comportamiento estable en los ambientes de evaluación. Con base en el criterio de repetibilidad superior a uno ($r > 1.0$), se eligieron 19 caracteres e índices, los cuales se utilizaron en los análisis de la clasificación.

Algunos estudios como el de Goodman y Paterniani (1969) y Sánchez *et al.* (1993) señalan que los caracteres vegetativos son los más afectados por factores ambientales y de interacción, en comparación con los de la mazorca y espiga que son más útiles en la clasificación de razas.

Sin embargo, este trabajo se enfocó en la diversidad de poblaciones nativas dentro de la raza Ratón, por lo que la relevancia de las características

consideradas por otros estudios puede ser diferente para algunos caracteres e índices. También es importante mencionar que la repetibilidad difiere, según la naturaleza del carácter, las propiedades genéticas de la población y las condiciones ambientales en que se desarrollan los individuos (Falconer y Mackay, 1996).

Ordenamiento de las poblaciones

El análisis de la diversidad de las poblaciones evaluadas se exploró mediante el análisis de Componentes Principales (ACP). Los valores y vectores característicos asociados a los cuatro componentes principales del análisis de variables para la descripción morfológica se presentan en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Valores y vectores característicos asociados a los tres primeros componentes principales de análisis de las variables para la descripción morfológica.

Variables	Vectores característicos		
	CP1	CP2	CP3
Asincronía floral (d)	0.54	0.31	-0.13
Altura de planta (cm)	0.61 *	0.68 *	0.15
Altura de mazorca (cm)	0.69 *	0.61 *	0.15
Área foliar (cm ²)	0.77 *	0.26	0.26
Número espiguillas primarias	0.78 *	0.32	-0.24
Longitud pedúnculo (cm)	-0.54	0.55	-0.04
Longitud parte ramificada (cm)	0.84 *	0.27	-0.23
Longitud raquis central (cm)	-0.31	0.40	0.57
Longitud ramificada/total espiga (cm)	0.91 *	0.00	-0.30
Longitud pedúnculo/total espiga (cm)	-0.72 *	0.22	-0.24
Longitud raquis/total espiga (cm)	-0.37	-0.25	0.67 *
Número hileras	-0.02	0.41	0.70 *
Diámetro olote (cm)	0.55	-0.52	0.54
Diámetro /longitud mazorca (cm)	0.20	-0.41	0.50
Diámetro olote/mazorca (cm)	0.50	-0.70 *	0.27
Desgrane (%)	-0.79 *	0.19	-0.24
Espesor/ancho grano (cm)	-0.22	0.41	0.40

Espesor/longitud grano (cm)	0.06	-0.40	0.07
Ancho/longitud grano (cm)	0.25	-0.81 *	-0.29
Valor característico	6.25	3.88	2.59
Varianza explicada (%)	32.91	20.41	13.61

CP1, CP2, CP3= componentes principales; 1,2,3 respectivamente; *= variables con mayor asociación con el componente principal, respectivo.

Los valores y vectores característicos asociados mostraron el 66.93% de la varianza total cuando se tomaron en cuenta los tres primeros componentes. La importancia de las variables originadas en los componentes principales fue determinada considerando aquellos coeficientes de los vectores característicos superiores a 0.6.

El primer componente (CP1), se asoció positivamente con altura de planta y mazorca, área foliar, número de espiguillas primarias y longitud de parte ramificada, de manera negativa fue con porcentaje de desgrane y longitud de pedúnculo/longitud total de la espiga que en conjunto se asocian a las poblaciones con mayor altura de mazorca, hojas grandes y espigas con abundantes espiguillas primarias y de pedúnculo corto, así como un bajo porcentaje de desgrane.

El segundo componente (CP2), se asoció de manera positiva con altura de planta y mazorca, de manera negativa en ancho de grano/longitud de grano, diámetro olote/ diámetro mazorca, las cuales, distinguen poblaciones con las plantas más altas, pero con olotes delgados y granos pequeños.

Finalmente, el tercer componente (CP3) presentó asociación positiva con número de hileras y longitud de raquis central/longitud total de la espiga, los cuales diferencian a poblaciones con mayor número de hileras en la mazorca y espigas con raquis central de mayor longitud.

La mayoría de estos caracteres han sido reportados en otros estudios de diversidad de poblaciones nativas de maíz y los destacaron como importantes para valorar la diversidad presente entre poblaciones a nivel local (Gonzales-Martínez *et al.*, 2018; Rangel-Lucio *et al.*, 2021).

La figura de dispersión grafica de las 83 poblaciones de maíz de la raza Ratón, con base en los dos primeros componentes principales se presenta en la Figura 1.

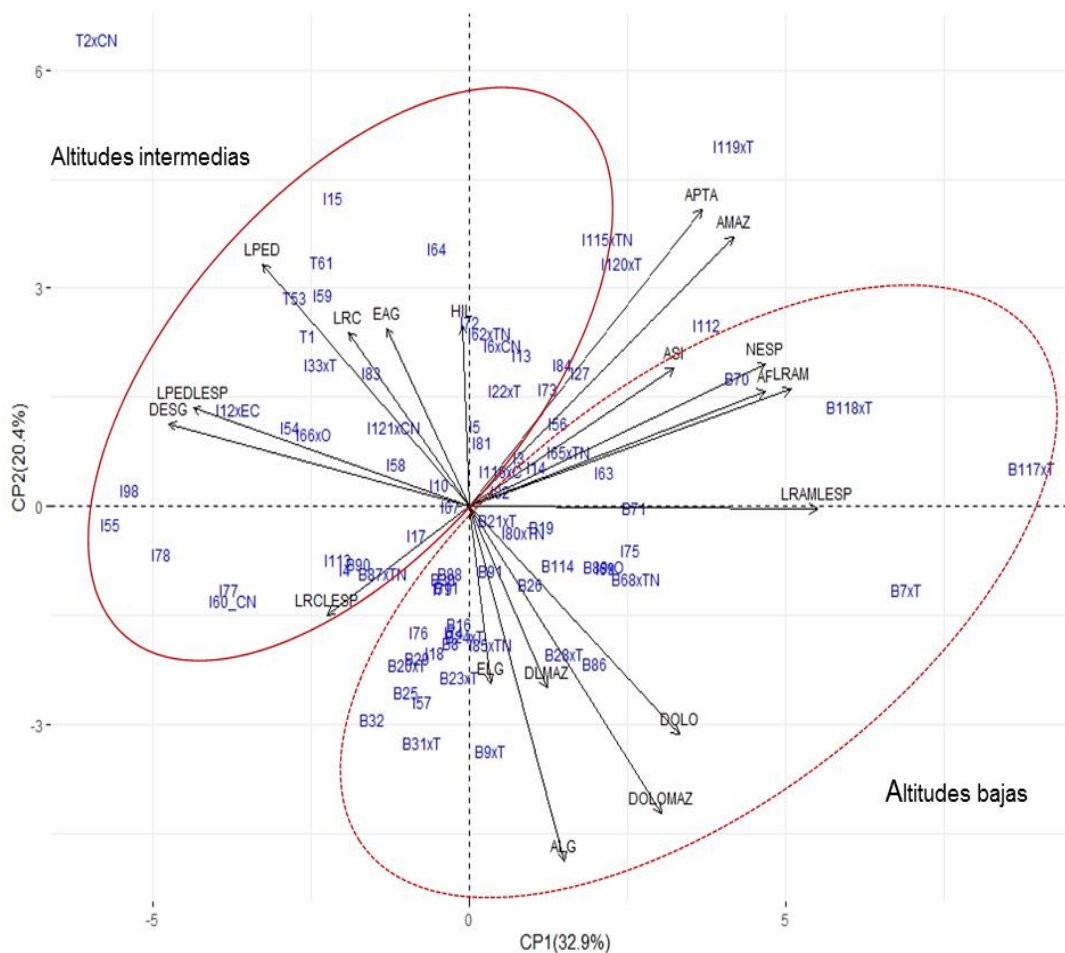


Figura 1. Dispersión de 83 poblaciones nativas de maíz de la raza Ratón de Coahuila, en base a los dos primeros componentes principales. Las poblaciones, el primer dígito corresponde al área de adaptación: B=Bajos, I=Intermedios, T=Transición; enseguida el número de la entrada y finalmente "x" indica la combinación con otras razas: C=Cónico, CN=Cónico Norteño, EC=Elotes Cónicos, O=Olotillo, T=Tuxpeño y TN=Tuxpeño Norteño.

Los dos primeros componentes principales explican el 53.3% de la variación total acumulada en las 19 variables originales. La interacción poblaciones x caracteres puede ser utilizada para analizar la relación de las poblaciones y sus características. Las poblaciones localizadas en el sentido del vector de un carácter indica la relación positiva entre ellos (Yan, 2014).

Rincón-Sánchez y Ruiz-Torres (2018) mencionaron que los índices de caracteres correlacionados tienen diferentes relaciones entre caracteres y varianzas grandes como lo indica la longitud del vector, por lo tanto, contribuyen a una relación complementaria de los caracteres originales y explican mejor las diferencias en las poblaciones nativas.

Por lo tanto, en la Figura 1 se observa una amplia distribución de las poblaciones de maíz en todos los cuadrantes asociados con los caracteres evaluados. Para las poblaciones que se encuentran en el extremo superior derecho, los caracteres de mayor importancia en su asociación y distribución fueron APTA, AMAZ, AF, NESP, LRAM y LRAM/LESP; para el extremo superior izquierdo los caracteres de mayor importancia en su asociación fueron DESG, LPED, y LPED/LESP. En el extremo inferior derecho los caracteres más importantes en su asociación fueron DOLO, DOLO/DMAZ y AG/LG. Finalmente, para el extremo inferior izquierdo se asoció únicamente con LRC/LESP.

La distribución de las poblaciones en todos los cuadrantes, indica la variación de la raza Ratón, la cual depende del área de procedencia, el manejo agronómico y la selección aplicada por los agricultores. En la Figura 1 se puede dilucidar dos grandes grupos de poblaciones las cuales están asociadas al origen de procedencia.

El grupo de poblaciones adaptadas a áreas de altitudes bajas (menor de 1000 m) se localiza entre los valores negativos del CP2 y valores positivos del CP1. Las poblaciones procedentes del área intermedia se pueden localizar entre los valores positivos del CP2 y valores negativos del CP1. Es decir, en la Figura se observa un continuo de la variación asociada al patrón del área de procedencia de las poblaciones.

Resultados similares fueron encontrados por Cabrera-Toledo *et al.* (2019) mencionan que los sitios de procedencia influyen en la agrupación por zonas de adaptación altitudinal. Franco e Hidalgo (2003) señalan que, a menor rango de dispersión geográfica de una especie vegetal, la variabilidad es más reducida.

Reif *et al.* (2006) mencionan que la distribución de la diversidad genética presenta un patrón de aislamiento por distancia, es decir, las poblaciones que se parecen más entre sí son aquellas que están más cercanas genética y geográficamente.

Análisis de conglomerados

En la Figura 2 se presenta el dendrograma de la diversidad genética de 83 poblaciones de maíz, utilizando como medida de distancia el complemento de coeficiente de correlación entre pares posibles de poblaciones ($d_{ij} = 1 - r$). Es importante destacar que el dendrograma de manera general muestra el patrón de relación entre las poblaciones observadas en la Figura 1, lo cual explica la variación total representada por los 19 caracteres en estudio.

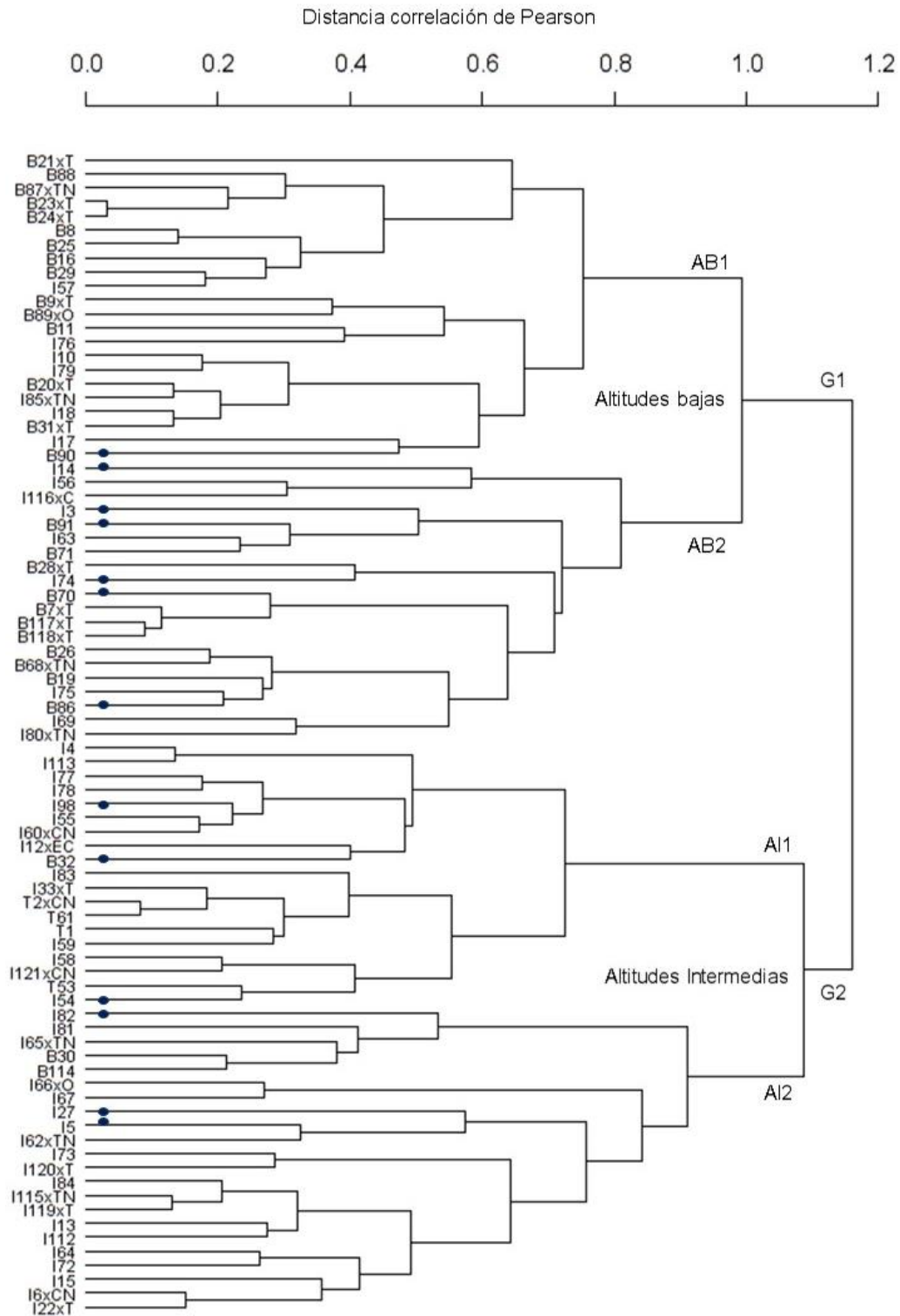


Figura 2. Dendrograma de 83 poblaciones nativas de maíz de la raza Ratón de Coahuila, utilizando el complemento de correlación como distancia y el método de agrupamiento por pares con base a promedios aritméticos (UPGMA). ● Poblaciones obtenidas del subconjunto representativo.

A una distancia de 1.1, se identificaron dos grandes grupos: El Grupo 1 conformado por las poblaciones provenientes de adaptación baja (41 poblaciones), y el Grupo 2 de adaptación intermedia (42 poblaciones). A una distancia de 0.9 aproximadamente (Figura 2) se pueden distinguir cuatro subgrupos de poblaciones. En el conjunto G1 se distinguen dos subgrupos (AB1, AB2), en tanto que en el Grupo 2, similarmente dos subgrupos (AI1, AI2).

Para determinar las relaciones entre los dos grandes grupos y los subgrupos en cada caso, se obtuvieron los valores promedio de los caracteres en estudio, y se presentan en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Promedios de los caracteres evaluados de cuatro grupos identificados en 83 poblaciones de maíz de la raza Ratón de Coahuila.

Variables	Grupos			
	AB1	AB2	AI1	AI2
Número de poblaciones	22	20	19	22
Asincronía floral (d)	1.22	1.94	1.44	1.82
Altura planta (cm)	187.59	208.28	191.64	213.42
Altura mazorca (cm)	105.49	125.36	104.40	126.64
Área foliar (cm ²)	543.98	590.11	495.42	559.73
Número espiguillas primarias	13.19	16.30	12.73	16.24
Longitud pedúnculo (cm)	20.08	19.86	23.28	21.52
Longitud parte ramificada (cm)	11.57	13.52	11.04	13.48
Longitud raquis central (cm)	27.13	26.69	28.08	26.89
Longitud parte ramificada/total espiga (cm)	0.20	0.23	0.18	0.22
Longitud pedúnculo/total espiga (cm)	0.34	0.33	0.37	0.35
Longitud raquis central /total espiga (cm)	0.46	0.44	0.45	0.44
Número hileras	13.09	13.10	13.35	13.34
Diámetro olote (cm)	2.69	2.67	2.37	2.45
Diámetro/longitud mazorca (cm)	0.34	0.31	0.30	0.31
Diámetro olote/mazorca (cm)	0.60	0.61	0.56	0.56
Desgrane (%)	0.81	0.80	0.83	0.82
Espesor/ancho grano (cm)	0.42	0.45	0.46	0.44
Espesor/longitud grano (cm)	0.33	0.35	0.35	0.32
Ancho/longitud grano (cm)	0.79	0.79	0.75	0.74

El grupo AB1 integrado por 22 poblaciones adaptadas a áreas bajas (menor de 1000 m). Se caracteriza por ser poblaciones con los valores más grandes en longitud raquis central/ total espiga (0.46), diámetro olote (2.69), diámetro/longitud de mazorca (0.34), ancho/longitud de grano (0.79) y cantidades menores en asincronía floral (1.22), altura de planta (187.59) y espesor/ancho de grano (0.42).

El grupo AB2 constituido por 20 poblaciones adaptadas a áreas bajas (menor de 1000 m). Se diferencia por ser las poblaciones que tuvieron los valores más altos en asincronía floral (1.94), área foliar (590.11), número de espiguillas primarias (16.30), longitud parte ramificada (13.52), longitud parte ramificada/total de espiga (0.23), diámetro olote/mazorca (0.61), espesor/longitud de grano (0.35), ancho/longitud de grano (0.79) y valores menores en longitud de pedúnculo (19.86), longitud de raquis central (26.69), longitud de pedúnculo/total espiga (0.33), longitud raquis central/ total espiga y porcentaje de desgrane (0.80).

El grupo AI1 conformado por 19 poblaciones adaptadas a áreas intermedias (1001– 1800 m). Se distinguen por ser las poblaciones de mayor longitud de pedúnculo (23.38), longitud de raquis central (28.08), longitud pedúnculo/total espiga (0.37), número de hileras (13.35), porcentaje de desgrane (0.83), espesor/ancho de grano (0.46), espesor/longitud de grano (0.35) y cantidades inferiores en altura de mazorca (104.4), área foliar (495.42), número de espiguillas primarias (12.73), longitud parte ramificada (11.04), longitud parte ramificada/total espiga (0.18), diámetro de olote (2.37), diámetro/longitud de mazorca (0.30) y diámetro olote/mazorca (0.56).

El grupo AI2 formado por 22 poblaciones adaptadas a áreas intermedias (1001– 1800 m). Sus poblaciones se caracterizan por presentar valores mayores en altura de planta (213.42), altura de mazorca (126.64) y los valores más bajos en longitud raquis c/total espiga (0.44), diámetro olote/mazorca (0.56), espesor/longitud de grano (0.32) y ancho/longitud de grano (0.74).

De manera muy general, las poblaciones se agruparon de acuerdo con su ámbito de adaptación (alturas intermedias y bajas), sin embargo, se observó en el

complejo de adaptación intermedia, la presencia de algunas poblaciones adaptadas áreas bajas y transición. Similarmente, en el complejo de adaptación baja, se distinguieron poblaciones de altura intermedia.

También, se aprecia la agrupación de las poblaciones adaptadas a áreas de transición (1801-2000 m) dentro del grupo G2 de adaptación a intermedias. Las poblaciones que presentan combinaciones con la raza Tuxpeño, Cónico y Olotillo se agruparon en el complejo de adaptación a áreas bajas, mientras que, las que tienen combinaciones con Tuxpeño Norteño, Cónico Norteño, Elotes Cónicos, Olotillo se agruparon en el complejo de adaptación a áreas intermedias.

Este comportamiento indica la presencia de las poblaciones de la raza Ratón en áreas diferentes a su ámbito de adaptación. Esta información concuerda con Rincón y Ruiz (2015) explican que se debe principalmente, a las condiciones ambientales, el movimiento de semilla entre agricultores, la adaptación específica de las poblaciones y las combinaciones con otros materiales.

Los caracteres morfológicos seleccionados por su valor de repetibilidad fueron útiles para la clasificación de las poblaciones en estudio (Figuras 1 y 2). Las diferencias o similitudes entre los dos grandes grupos y subgrupos se pueden verificar en el Cuadro 8, en cada una de las características fenotípicas (cuantitativas). Anderson y Cluter (1942) describen a las poblaciones dentro de una raza como individuos que tienen un número significativo de características y genes en común que las distinguen.

Subconjunto representativo

Las relaciones entre las poblaciones evaluadas se identificaron con el dendrograma antes descrito, el cual representa las relaciones fenotípicas entre las poblaciones en estudio. A partir del dendrograma se desarrolló un muestreo estratificado y direccional modificado con el que se pudo definir un subconjunto.

El subconjunto representativo se conformó por 13 de las 83 poblaciones de maíz, el equivalente al 15.7% que explica la variación dentro de las poblaciones

evaluadas, de acuerdo con la información total acumulada en los 19 caracteres estudiados.

El subconjunto de poblaciones representa una muestra de la diversidad de las poblaciones nativas de maíz dentro de la raza Ratón de Coahuila, con base en los caracteres morfológicos cuantitativos (agronómicos, vegetativos, espiga, mazorca y grano). Las poblaciones que forman este subconjunto se visualizan en la Figura 2.

El muestreo estratificado y direccional basado en el dendrograma, usando los valores menores en los pares de poblaciones y con fotografías de la mazorca obtenidas en cada una de la combinación localidad x fechas de siembra x repeticiones, permitió seleccionar poblaciones sin combinaciones con otras razas presentes en la región (Figura 2). En cuanto a zonas de altitud solo se seleccionaron las poblaciones de zonas intermedias y bajas.

Rincón *et al.* (1996) utilizaron un proceso de muestreo estratificado para definir un subconjunto de 23% del número total de accesiones en la colección basado en datos agronómicos.

Utilizando datos moleculares, Franco *et al.* (2006) compararon 24 estrategias de muestreo estratificado aplicadas a diferentes conjuntos de datos con una intensidad del 20% de la colección para el manejo de los recursos genéticos.

También, Rincón-Sánchez y Ruiz-Torres (2018) realizaron un subconjunto definido por 18 de las 77 poblaciones de maíces nativos (23,4%), considerando la variación entre y dentro de los dos grupos principales (tipo de mazorca cónica y cilíndrica), manteniendo al menos una población de las razas. menos representados en el área de estudio.

Los promedios de algunas de las características morfológicas usadas en la clasificación de importancia en el subconjunto se pueden ver en el Cuadro 9.

Cuadro 9. Promedios de los caracteres morfológicos del subconjunto representativo de 13 poblaciones de la raza Ratón de Coahuila.

Variables	Poblaciones del subconjunto representativo												
	I3	I5	I14	I27	B32	I54	B70	I74	I82	B86	B90	B91	I98
Altitud (msnm)	I	I	I	I	B	I	B	I	I	B	B	B	I
Floración masculina (d)	85.9	84.1	83.5	88.9	69.8	76.0	94.0	75.8	80.6	79.6	84.3	84.1	75.4
Floración femenina (d)	88.6	85.5	84.5	90.4	72.1	76.6	98.0	76.8	82.6	81.0	86.8	85.6	76.3
Rendimiento (t ha ⁻¹)	5.9	6.2	6.0	6.1	4.5	6.1	5.1	5.1	5.7	5.7	4.4	3.9	5.0
Altura planta (cm)	198.9	218.2	213.9	226.8	166.5	190.8	226.8	170.5	193.3	191.4	182.9	190.9	154.8
Longitud hoja (cm)	91.4	89.2	94.7	95.9	79.3	87.8	92.8	80.9	82.4	90.7	79.8	85.3	74.2
Ancho hoja (cm)	8.7	8.0	7.9	8.7	7.3	8.1	9.3	8.1	8.3	8.3	8.7	8.0	7.3
Hojas arriba mazorca (cm)	5.0	5.5	5.5	5.0	4.3	4.9	5.3	4.9	4.8	4.8	4.9	4.9	3.8
Número espiguillas primarias	16.2	15.2	16.2	16.2	14.2	14.9	19.3	15.8	13.7	15.4	12.3	15.8	11.3
Longitud total espiga (cm)	61.5	58.7	61.0	65.0	60.8	64.1	56.5	55.8	58.4	58.7	55.1	57.4	59.2
Número de hileras	12.3	13.6	14.0	14.0	12.7	12.7	13.5	14.1	13.9	12.9	13.0	12.1	13.9
Granos por hilera	30.9	29.5	30.1	28.7	23.9	32.0	29.4	31.7	31.3	29.4	29.9	32.2	28.9
Longitud mazorca (cm)	14.8	14.5	14.1	13.9	12.2	14.2	13.3	14.0	13.7	13.9	13.7	14.1	13.7
Diámetro mazorca (cm)	4.2	4.4	4.4	4.4	4.5	4.3	4.3	4.3	4.3	4.5	4.3	4.0	3.8
Desgrane (%)	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
Longitud grano (cm)	1.1	1.2	1.1	1.1	1.1	1.2	1.1	1.1	1.1	1.1	1.2	1.0	1.1
Ancho grano (cm)	0.9	0.9	0.9	0.8	1.0	0.9	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	0.9	0.8
Espesor grano (cm)	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4

I= altitud intermedia; B= altitud baja

Con base en las características morfológicas para el subconjunto representativo, la raza Ratón de Coahuila, es un tipo de maíz, que se distribuye en gran parte de las condiciones ambientales del estado. Son poblaciones adaptadas a áreas intermedias (1001 – 1800 m) y bajas (menor de 1000 m). Su ciclo vegetativo varía de 75 a 94 días, el rendimiento oscila entre 3.95 y 6.16 t ha⁻¹. Resultados similares fueron reportados por Nájera *et al.* (2010) y Espinosa *et al.* (2019) quienes señalan que las poblaciones de la raza Ratón de Coahuila tienen buen potencial de rendimiento y precocidad.

Son plantas de alturas entre 154 y 227 cm, lo que constituye una ventaja, pues una menor altura en la planta reduce considerablemente el riesgo de acame. Tiene de 4 a 5 hojas arriba de la mazorca, con una longitud de hoja de 70 a 90 cm y ancho de 7 a 9 cm en promedio, base para la estimación de la capacidad fotosintética y la acumulación de biomasa. Las espigas tienen longitudes de 50 a 60 cm y de 11 a 16 espiguillas primarias, importantes para una polinización efectiva, al tener buena amplitud para la producción de polen.

Las mazorcas se distinguen por tener en promedio 12 hileras, de 23 a 32 granos por hilera, longitudes de 14 cm, diámetros de mazorca entre 4 y 4.5 cm y un porcentaje de desgrane de 0.80%. La longitud de grano en promedio es de 1.0 cm, el ancho de grano de 0.77 a 0.96 cm y espesor de 0.36 a 0.43 cm.

Lo anterior coincide con otros estudios de diversidad de poblaciones de la raza Ratón, como el de Ortega *et al.* (1985) donde describe por primera vez esta raza, Rincón y Ruiz (2015) en Coahuila y González-Martínez *et al.* (2020) en Tamaulipas, y concuerdan que esta raza posee características deseables para el mejoramiento genético como: precocidad, estabilidad en rendimiento y resistencia a la sequía ya que se adapta a zonas de temporal menos favorable y a zonas semidesérticas con riego, por lo que, podría ser una alternativa para mitigar los efectos del cambio climático, al ser utilizados en combinaciones genéticas, particularmente en maíces de áreas de transición y altura.

Parte 2 Caracterización genética

Se seleccionaron 53,932 marcadores polimórficos en un solo nucleótido (SNPs), resultantes de un proceso de filtrado de calidad donde se eliminaron previamente los marcadores monomórficos, también se utilizó la tasa de llamada de los SNPs y la Reproducibilidad entre los datos generados para la obtención de marcadores de muy buena calidad.

También fueron calculados los valores del contenido de información polimórfica (PIC) el cual indica el grado de información que presenta un marcador. Bostein *et al.* (1980) establecieron rangos de PIC con base en las frecuencias alélicas que presentan en cada locus: Altamente informativos (PIC>0.5), razonablemente informativos (PIC<0.5 a >0.25) y ligeramente informativos (PIC<0.25).

En este estudio el valor promedio de PIC fue de 0.58 considerado como altamente informativo. Valores inferiores a los reportados por Pineda-Hidalgo *et al.* (2013) encontraron valores de PIC de 0.68 en 20 SSR en poblaciones nativas de maíz de Sinaloa. Estas diferencias se pueden atribuir a la reducida cantidad de alelos por locus ya sea por el germoplasma en estudio y la naturaleza del marcador molecular empleado.

Análisis molecular de la varianza

La estructura genética de las poblaciones puede analizarse mediante la comparación de las frecuencias alélicas en un análisis molecular de la varianza que se observa en el Cuadro 10.

Cuadro 10. Análisis molecular de la varianza de 81 poblaciones nativas de la raza Ratón de Coahuila.

Fuente de variación	g.l	Suma de cuadrados	Porcentaje de variación
Entre grupos	3	0.54	8.00
Dentro de grupos	77	5.07	91.99
Total	80	5.62	100.00

g.l= grados de libertad.

El porcentaje de variación obtenido entre grupos fue del 8%, lo que indica una baja diferenciación genética inter-poblacional. Por el contrario, la variación dentro de grupos muestra una alta diferenciación genética intra-poblacional con un valor del 92 %. Los resultados obtenidos se deben a que todas las poblaciones de maíz evaluadas en este trabajo pertenecen a la raza Ratón, sin embargo, se presenta variación amplia dentro de grupo asociada a las diferencias entre poblaciones.

Herrera-Saucedo *et al.* (2019) evaluaron Apachito, Azul, Cónico Norteño, Cristalino Chihuahua, Gordo, Palomero Chihuahua, Ratón y Tuxpeño Norteño y obteniendo el 24.4% de la variación total entre las poblaciones y el 75.6 % restante dentro de ellas y señalan que esta diferenciación genética probablemente está involucrada con la distancia geográfica y lo escarpado del terreno de las áreas de procedencia de las recolectas estudiadas.

Rocandio-Rodríguez *et al.* (2014b) estudiaron Arrocillo Amarillo, Cacahuacintle, Chalqueño y Purépecha reportando una variación dentro de grupos de 76.3 %, debido a que emplearon una gran cantidad de poblaciones pertenecientes a la misma raza. Por otro lado, Doebley *et al.* (1985) mencionan que los altos porcentajes de diferenciación genética entre las poblaciones se deben a la recombinación dentro de las mismas poblaciones, provocando los fenómenos de deriva genética y endogamia debido a que las muestras utilizadas son pequeñas.

No obstante, el número de poblaciones de una misma raza o de diferentes, la cantidad de marcadores moleculares y el número de individuos analizados influyen en la partición de la diversidad entre y dentro de grupos.

Índices de diversidad genética

Los resultados de los índices de diversidad genética obtenidos con marcadores moleculares SNPs se presentan en el Cuadro 11.

Cuadro 11. Índices de diversidad genética de 81 poblaciones nativas de maíz de la raza Ratón de Coahuila.

Poblaciones	He	Ho	Ae	SH	R _j
B11	0.4381 **	0.4740	1.7796 **	0.3502	129.3700 **
B114	0.4336	0.4656	1.7656	0.3441	118.8507
B117xT	0.4355 **	0.4948 **	1.7714 **	0.3735 **	127.2643 **
B118xT	0.4355 **	0.4582	1.7716 **	0.3404	113.6639
B16	0.4470 **	0.4797	1.8082 **	0.3586	162.3021 **
B19	0.4367 **	0.5112 **	1.7753 **	0.3869 **	142.5258 **
B20xT	0.4336	0.5421 **	1.7656	0.3955 **	131.8046 **
B21xT	0.4347 *	0.4856 *	1.7690 *	0.3648 **	125.9361 *
B23xT	0.4340	0.4540	1.7668	0.3329	117.2293
B24xT	0.4313	0.4991 **	1.7585	0.3750 **	128.9789 **
B25	0.4332	0.4772	1.7643	0.3531	115.7989
B26	0.4306	0.4929 **	1.7563	0.3647 **	117.8282
B28xT	0.4346 *	0.4789	1.7687 *	0.3567	121.2255
B29	0.4326	0.4861 *	1.7624	0.3580	118.5070
B30	0.4320	0.4847 *	1.7607	0.3575	117.9691
B31xT	0.4370 **	0.4641	1.7761 **	0.3433	113.8507
B32	0.4344 *	0.5114 **	1.7680	0.3857 **	129.5826 **
B68xTN	0.4447 **	0.5090 **	1.8008 **	0.3894 **	157.8726 **
B7xT	0.4318	0.4651	1.7598	0.3427	115.7306
B70	0.4298	0.4936 **	1.7539	0.3698 **	123.6555
B71	0.4307	0.4719	1.7567	0.3480	113.5397
B8	0.4350 **	0.4760	1.7698 **	0.3529	116.1096
B86	0.4316	0.4786	1.7592	0.3523	118.8583
B87xTN	0.4337	0.4876 **	1.7658	0.3633 **	117.0986
B88	0.4320	0.4924 **	1.7606	0.3645 **	118.1770
B89xO	0.4343 *	0.4985 **	1.7676	0.3735 **	131.9927 **
B9xT	0.4326	0.4870 **	1.7624	0.3679 **	123.1819
B90	0.4328	0.4539	1.7629	0.3322	117.4426
B91	0.4302	0.4681	1.7550	0.3478	122.2984
I10	0.4352 **	0.4569	1.7705 **	0.3379	113.0369
I112	0.4338	0.4892 **	1.7662	0.3601	116.7522
I113	0.4338	0.4829	1.7662	0.3630 **	123.0950
I115xTN	0.4331	0.4982 **	1.7641	0.3724 **	118.5170
I116xC	0.4348 **	0.4768	1.7693 *	0.3530	120.2254
I119xT	0.4344 *	0.4644	1.7679	0.3448	116.0054
I12xEC	0.4321	0.4760	1.7608	0.3565	118.2586
I120xT	0.4315	0.4914 **	1.7591	0.3575	119.5823
I121xCN	0.4339	0.4866 **	1.7663	0.3678 **	123.5978

I13	0.4317	0.5313	**	1.7596	0.3879	**	120.7570			
I14	0.4356	**	0.4952	**	1.7718	**	0.3722	**	122.4780	
I15	0.4372	**	0.4920	**	1.7769	**	0.3727	**	134.2252	**
I17	0.4325	0.4592		1.7620	0.3397		116.2698			
I18	0.4330	0.4629		1.7638	0.3442		112.4769			
I22xT	0.4336	0.4970	**	1.7656	0.3749	**	133.4225	**		
I27	0.4335	0.4629		1.7652	0.3409		121.1685			
I3	0.4348	**	0.4876	**	1.7692	*	0.3677	**	127.3860	**
I33xT	0.4383	**	0.4858	*	1.7805	**	0.3649	**	137.8287	**
I4	0.4328	0.4555		1.7632	0.3329		114.6969			
I5	0.4337	0.4874	**	1.7659	0.3667	**	126.2868	*		
I54	0.4347	*	0.4804		1.7691	*	0.3574		117.4102	
I55	0.4305	0.4963	**	1.7559	0.3660	**	120.3569			
I56	0.4320	0.5127	**	1.7607	0.3887	**	129.5621	**		
I57	0.4371	**	0.4847	*	1.7764	**	0.3616	**	132.8479	**
I58	0.4357	**	0.4662		1.7721	**	0.3483		114.0331	
I59	0.4360	**	0.5005	**	1.7729	*	0.3754	**	129.6377	**
I6xCN	0.4357	**	0.4870	**	1.7721	**	0.3665	**	126.5706	**
I60xCN	0.4304	0.4805		1.7555	0.3555		115.9185			
I62xTN	0.4299	0.4941	**	1.7541	0.3642	**	118.8930			
I63	0.4442	**	0.5076	**	1.7992	**	0.3889	**	155.1375	**
I64	0.4407	**	0.4930	**	1.7879	**	0.3726	**	142.8132	**
I65xTN	0.4358	**	0.4667		1.7725	**	0.3494		113.4402	
I66xO	0.4469	**	0.5298	**	1.8081	**	0.3898	**	164.0776	**
I67	0.4333	0.4806		1.7646	0.3561		118.2704			
I69	0.4346	*	0.4654		1.7685	*	0.3410		117.9251	
I73	0.4351	**	0.4573		1.7702	**	0.3368		114.2563	
I74	0.4312	0.4704		1.7582	0.3484		115.7294			
I75	0.4349	**	0.4599		1.7697	**	0.3423		113.0526	
I76	0.4331	0.4666		1.7641	0.3413		118.1330			
I77	0.4356	**	0.4950	**	1.7717	**	0.3767	**	129.7482	**
I78	0.4369	**	0.4805		1.7758	**	0.3535		137.8934	**
I79	0.4335	0.4799		1.7653	0.3557		119.7919			
I80xTN	0.4314	0.4808		1.7586	0.3568		120.2947			
I81	0.4334	0.4593		1.7650	0.3347		115.1872			
I82	0.4336	0.4963	**	1.7656	0.3734	**	131.0442	**		
I83	0.4378	**	0.4956	**	1.7789	**	0.3722	**	143.4624	**
I84	0.4322	0.4654		1.7611	0.3453		115.2394			
I85xTN	0.4344	*	0.4656		1.7679		0.3438		120.5828	
T1	0.4316	0.4633		1.7593	0.3404		115.7324			
T2xCN	0.4330	0.4932	**	1.7638	0.3564		126.6264	**		
T53	0.4345	*	0.4847	*	1.7682		0.3636	**	124.0646	
T61	0.4340	0.4903	**	1.7668	0.3587		118.8965			

Media	0.4344	0.4830	1.7680	0.3593	123.9670
Máxima	0.4469	0.5420	1.8080	0.3955	164.0780
Mínima	0.4298	0.4540	1.7540	0.3322	112.4770
EE	0.0004	0.0020	0.0012	0.0017	1.2329

*, **= Poblaciones con mayor diversidad genética con base en la $\mu+EE$ y $\mu+2EE$; en las poblaciones el primer dígito corresponde al área de adaptación= Baja, I=Intermedia, T=Transición, enseguida el número de la entrada y finalmente "x" indica la combinación con otras razas: C=Cónico, CN=Cónico Norteño, EC= Elotes Cónicos, O=Olotillo, T=Tuxpeño y TN=Tuxpeño Norteño; He=Heterocigosidad esperada; Ho=Heterocigosidad observada; Ae= Número de alelos efectivos; SH= Índice de Shannon; R_j= Número de alelos raros; EE=Error estándar.

Los índices de diversidad son parámetros que dan información sobre el grado de variabilidad genética existente entre o dentro de un grupo de poblaciones. En este estudio, de manera general, se observó que 23 de 48 poblaciones del grupo de adaptación intermedia y 12 de 29 poblaciones del grupo de adaptación baja presentaron valores superiores de diversidad genética, por lo que ambos grupos presentan un patrón de diversidad similar.

La mayor parte de razas con baja diversidad son destinadas para usos especiales utilizados en la alimentación humana las cuales son regidas por una alta presión de selección de calidad de semillas por parte de los agricultores, además, de que su distribución geográfica es restringida, por lo que también pueden tener niveles altos de endogamia y deriva genética (Sánchez *et al.*, 2000; González *et al.*, 2013).

La Heterocigosidad esperada (He), es la probabilidad de que un individuo sea heterocigoto para un loci (Nei, 1987). El valor máximo de Heterocigosidad esperada para cada polimorfismo de un solo nucleótido (SNPs) es del 50% (Aranguren-Méndez *et al.*, 2005). En esta evaluación se encontraron valores para He de 0.42 a 0.44, estos valores muestran una diversidad genética considerable inclusive superiores a los obtenidos por Arteaga *et al.* (2015) con una He en promedio de 0.31 utilizando marcadores SNPs en poblaciones nativas de la raza Ratón.

Se han reportado otros estudios recientes de diversidad genética, como los de Herrera-Saucedo *et al.* (2019), reportaron valores de He=0.70 en poblaciones de

la raza Ratón con base en secuencias simples repetidas de ADN, conocidas también como microsatélites (SSR). También el de Barrera-Guzmán *et al.* (2020) reportaron valores promedio de $He=0.44$ utilizando el mismo tipo de polimorfismos.

Sin embargo, es importante aclarar que las comparaciones entre estudios de diversidad genética no siempre van a coincidir en sus resultados debido a la naturaleza de las poblaciones en estudio, la distribución geográfica, el tamaño de la muestra, así como la técnica y tipo de marcadores moleculares empleados (González *et al.*, 2013).

Ordenamiento de poblaciones

El análisis de dispersión gráfica de las 81 poblaciones de maíz con base en el análisis de componentes principales, obtenido mediante las distancias genéticas se presenta a partir de los SNPs se presenta en la Figura 3.

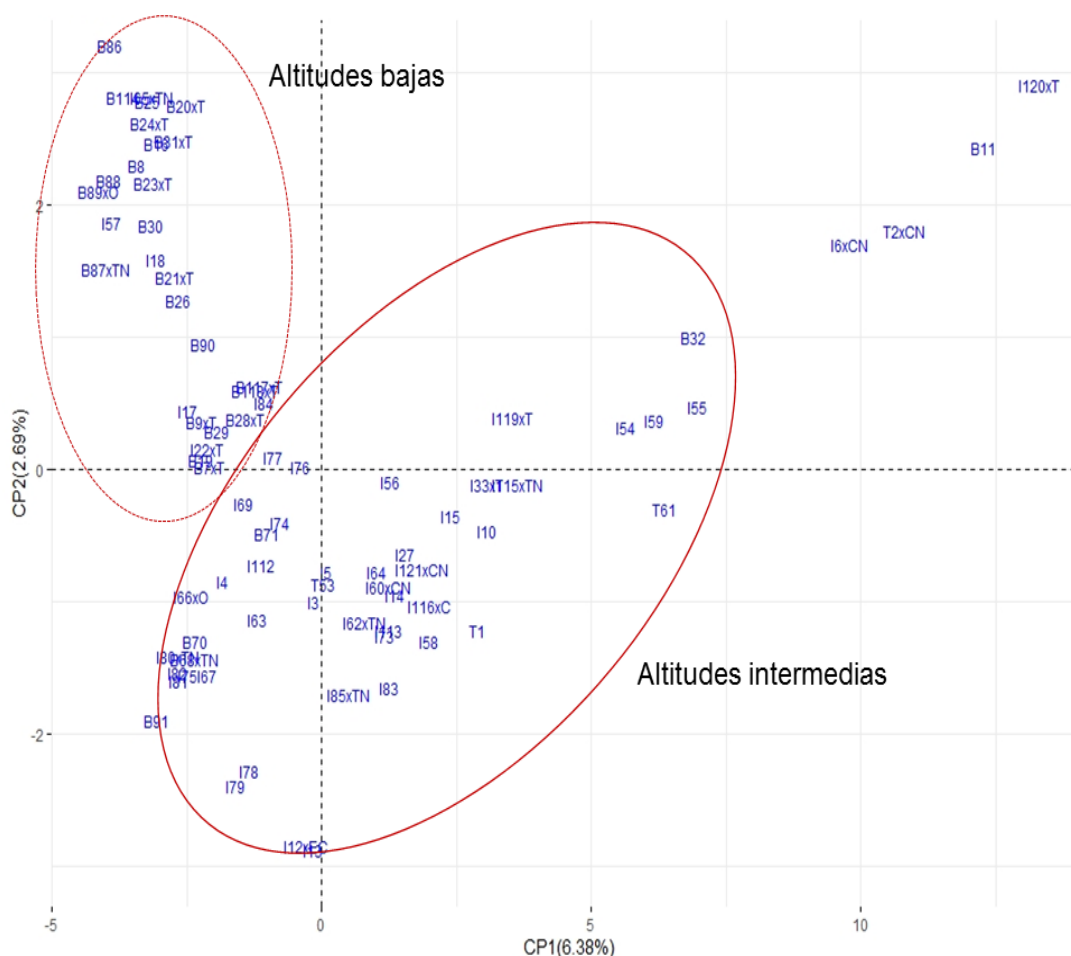


Figura 3. Dispersión gráfica de 81 poblaciones nativas de maíz de la raza Ratón de Coahuila, con base en los dos primeros componentes principales (CP1 y CP2), obtenidos de datos genéticos. en las poblaciones el primer dígito corresponde al área de adaptación= Baja, I=Intermedia, T=Transición, enseguida el número de la entrada y finalmente "x" indica la combinación con otras razas: C=Cónico, CN=Cónico Norteño, EC= Elotes Cónicos, O=Olotillo, T=Tuxpeño y TN=Tuxpeño Norteño.

En la dispersión grafica basada en el análisis de componentes principales se explicó el 9.07% de la varianza total. En la Figura 3 se observan dos grandes grupos de poblaciones los cuales están asociados a las áreas de adaptación. En este sentido se observa la agrupación para zonas de adaptación bajas (menor de 1000 m) que se localiza entre los valores positivos del CP2, con algunas pocas excepciones. Las poblaciones de áreas intermedias (1001– 1800 m) se ubican en los valores negativos del CP1 y CP2, también con algunas excepciones.

Resultados similares fueron observados por Arteaga *et al.* (2015) quienes mencionan que la falta de agrupaciones definidas entre las poblaciones puras y combinadas se debe a que no todas tienen el mismo antepasado en común, es decir, no son monofiléticas.

La distribución de variedades locales muestra, en términos generales, que la regionalización biogeográfica describe tanto la geografía como el ambiente. La altitud es un factor importante que determina la variación genética del maíz, la cual puede auxiliar en la definición del origen, la propagación y la infiltración génica de variedades nativas, aunada al uso de herramientas moleculares como los marcadores SNPs (Van Heerwardeen *et al.*, 2011).

Caldú-Primo *et al.* (2017) utilizaron SNPs para identificar loci asociados con la altitud y sugieren que las variedades locales tienen un componente de adaptación local al rango altitudinal donde se cultivan, además combinando el análisis de variedades locales con un análisis de asociación ambiental sobre los datos genómicos, es posible reconocer loci influenciados por selección natural o artificial.

También, se logra dilucidar de la Figura 3 la presencia de poblaciones de altura baja en el grupo de adaptación intermedia. Rincón-Sánchez y Ruiz-Torres (2018), señalan que esto se deben principalmente al flujo de genes entre ubicaciones debido al manejo, selección e intercambio de semilla por parte de los agricultores de dicha región, lo cual constituye una práctica común en México.

Romero-Navarro *et al.* (2017) utilizando SNPs en poblaciones de razas nativas de maíz indicaron que la adaptación a diferentes altitudes se debe a dos razones: 1) no están completamente diferenciadas con alelos que se segregan entre patrones de adaptación altitudinal y 2) la recombinación también puede limitar la segregación libre de alelos través de la presencia de características genómicas que propician un incremento en el desequilibrio de ligamiento.

Relación entre poblaciones

El análisis de conglomerados de la diversidad genética de las 81 poblaciones de maíz, utilizando la distancia genética de Rogers modificada (Wright, 1978) y el método de agrupación de Ward (Ward, 1963) se presenta en la Figura 4.

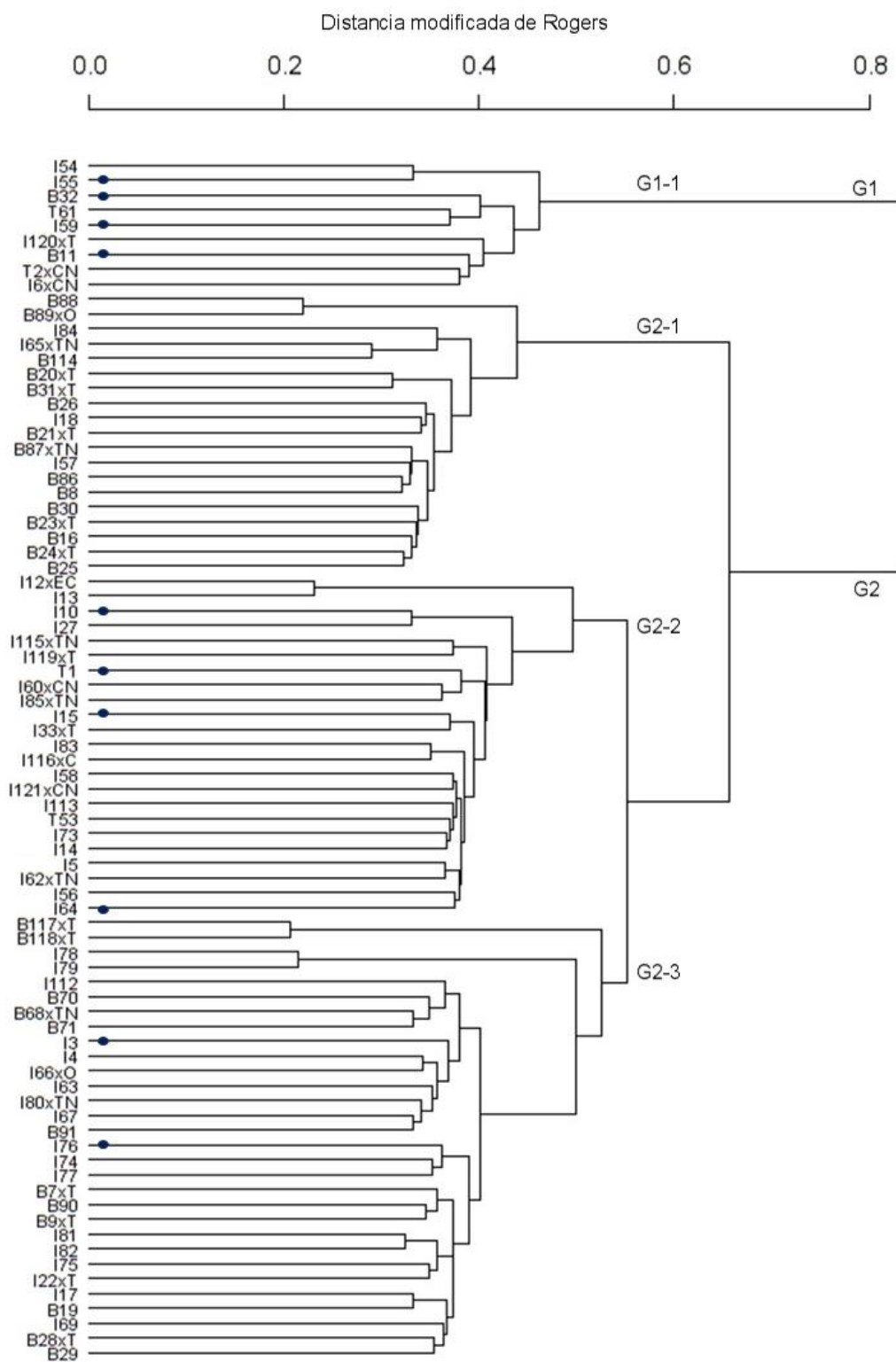


Figura 4. Dendrograma de 81 poblaciones nativas de maíz de la raza Ratón de Coahuila, desarrollado mediante marcadores SNP utilizando la distancia de Rogers modificada y el método de agrupamiento Ward. ● "Poblaciones obtenidas del subconjunto representativo."

Es importante destacar que el dendrograma (Figura 4) muestra la similitud entre las poblaciones de maíz, explicando la variación total representada por los 53,932 SNPs utilizados para este estudio. A una distancia de 0.7 se pueden identificar dos grupos (G1 y G2). El conjunto G1 se conformó por nueve poblaciones, mientras que el conjunto G2 se estableció con 72 poblaciones. A una distancia de 0.5 aproximadamente se pueden distinguir cuatro subgrupos de poblaciones a partir de estos dos grupos mayores.

El grupo G1-1 se constituyó por seis poblaciones de Ratón, dos Ratón x Cónico Norteño y una Ratón x Tuxpeño, con adaptación a alturas de transición (1801-2000 m), intermedias (1001 – 1800 m) y bajas (menor de 1000 m) respectivamente.

El grupo G2-1 se compuso de 11 poblaciones de Ratón, cinco Ratón x Tuxpeño, dos Ratón x Tuxpeño Norteño y una Ratón x Olotillo, con adaptación a zonas bajas (menor de 1000 m) y algunas a intermedias (1001 – 1800 m).

El grupo G2-2 se formó de 14 poblaciones de Ratón, tres Ratón x Tuxpeño Norteño, dos Ratón x Tuxpeño, dos Ratón x Cónico Norteño, una Ratón x Cónico y una Ratón x Elotes Cónicos con adaptación a altitudes intermedias (1001 – 1800 msnm), con presencia de algunas de transición (1801-2000 m).

El grupo G2-3 se conformó por 21 poblaciones de Ratón, seis Ratón x Tuxpeño, dos Ratón x Tuxpeño Norteño y una Ratón x Olotillo. En su mayoría son poblaciones de adaptación a zonas intermedias (1001 – 1800 m) y en menor proporción a bajas (menor de 1000 m).

De manera general, se pueden distinguir dos grupos asociados con las poblaciones adaptadas a áreas bajas (Grupos G1 y G2-1) y las de áreas intermedias (G2-2 y G2-3), sin embargo, no se identifica consistencia con la contribución de otros grupos raciales, al estar estos, distribuidos en los cuatro subgrupos. Además, aunque hay una tendencia a la separación de las poblaciones por su área de adaptación, en el G2-3 se presenta la presencia de

poblaciones de áreas bajas e intermedias en una proporción de 40 y 60 %, respectivamente.

Es importante resaltar que el origen de la raza Ratón no está bien definido, ya que, en sus estudios Ortega *et al.* (2013), señalan como posibles progenitores a las razas Nal-Tel y Tuxpeño por las similitudes en sus zonas de adaptación y características agromorfológicas.

Otro aspecto importante es la distribución de las poblaciones de esta raza, Orozco-Ramírez *et al.* (2017) en sus estudios de la distribución geográfica, mediante los patrones de regionalización de las razas Ratón, Tuxpeño, Celaya y Cónico de las regiones del Noreste de México, definieron que tienen una distribución relativamente compacta por su corta cercanía concentrada en los estados de Nuevo León, Tamaulipas y Coahuila.

Las combinaciones por factores del tipo ambiental y de producción con otras razas nativas (Tuxpeño, Tuxpeño Norteño, Cónico Norteño, Cónico, Olotillo, Elotes Cónicos) de la misma región, también pueden estar influyendo en la relación genética entre las poblaciones evaluadas (Rincón *et al.*, 2010; Rincón y Ruiz 2015).

Resultados similares fueron reportados por Vega-Álvarez *et al.* (2017) quienes obtuvieron una variación alélica abundante y una limitada diferenciación de los alelos de secuencias simples repetidas (SSR) caracterizados, indicando que este comportamiento se debe a que las poblaciones de una misma raza pueden estar experimentando divergencia por aislamiento en diferentes localidades. Estos mismos autores también sugieren que el tiempo de diferenciación de los genomas de las razas ha sido corto, por lo tanto, su información genética es similar dando como resultado una falta de agrupamiento.

Los resultados en el presente estudio indican que la variación de la raza Ratón está distribuida siguiendo un patrón altitudinal asociado a las áreas de adaptación baja, intermedia y de transición respectivamente. Esto coincide con la investigación por Rodríguez-Pérez *et al.* (2012), quienes evaluaron poblaciones

de Ratón, Tuxpeño, Tuxpeño Norteño y Olotillo en Nuevo León, mediante polimorfismos de longitud de fragmentos amplificados (AFLP) las cuales presentaron una estrecha similitud molecular debido a la cercanía de los municipios donde se colectaron.

Romero-Navarro *et al.* (2017) empleando SNPs en poblaciones nativas de maíz, mencionan que los amplios rangos de altitud están estrechamente correlacionados con el tiempo de floración y los gradientes de temperatura y humedad, los cuales son importantes en la adaptación local de las poblaciones de maíz que crecen a diferentes altitudes y latitudes. Estos mismos autores también sugieren que el aislamiento por distancia y altitud (geografía) y la estructura del genoma son datos complementarios para tratar de explicar la distribución de la variación genética del maíz.

Subconjunto representativo con SNPs

Con base en los marcadores moleculares SNPs se estableció el subconjunto de poblaciones que representa una muestra de la diversidad de las poblaciones nativas de maíz de la raza Ratón de Coahuila. Este está conformado por 10 de las 51 poblaciones de maíz (no se incluyeron en la definición del subconjunto las combinaciones con otras razas), el equivalente al 20% del total y que explica la variación dentro de las poblaciones evaluadas. Las poblaciones que integran este subconjunto se visualizan en la Figura 4.

El objetivo principal del subconjunto representativo mediante datos genéticos es retener todos los alelos únicos maximizando la diversidad total mediante la riqueza de alelos y/o maximizando la representatividad genética en el subconjunto. En este sentido el algoritmo Core Hunter (Thachuk *et al.*, 2009) utiliza la distancia genética, así como algunos índices de diversidad genética para lograr este cálculo.

La dinámica de elaboración de subconjuntos de este algoritmo, se basa en los datos de los marcadores SNPs, para cada uno con dos posibles alelos. Cada SNPs muestra la presencia de uno de los dos posibles alelos en cada posición del marcador, así el subconjunto central deberá contener todos los alelos únicos

que se encuentran en la colección original (Thachuk *et al.*, 2009). Estos mismos autores, recomiendan que primero se estratifiquen los genotipos en base la información ecogeográfica y otros criterios antes de formar los subconjuntos básicos cuando se utiliza este tipo de algoritmo.

Es importante mencionar que, para construir este subconjunto representativo, primero se eliminaron las poblaciones que tenían combinaciones con otras razas presentes en la región. El resultado indica que se muestreó tres de los cuatro subgrupos; con respecto al área de adaptación, el subconjunto incluyó poblaciones de las tres áreas: de transición (1), intermedias (7) y bajas (2). Debido que, en la formación del subconjunto se maximiza la diversidad total mediante la riqueza de alelos (Thachuk *et al.*, 2009), el subconjunto obtenido no logra obtener una muestra representativa en función del patrón de diversidad genética.

El mejor subconjunto debe tener la distancia promedio más alta entre accesiones, y la mayor riqueza de alelos, así como también una baja proporción de alelos no informativos (Thachuk *et al.*, 2009). Las poblaciones seleccionadas tienen los valores más altos en los índices de diversidad (riqueza alélica) antes mencionados (Cuadro 11). Lo que indica que el subconjunto representó la máxima variación alélica de las poblaciones de la raza Ratón de Coahuila.

Los índices de diversidad genética no consideran pares de accesiones, sino la composición alélica como la muestra de un todo. Estos índices son muy útiles para asegurar que los alelos raros, que puedan conferir una propiedad deseable sean incluidos en el subconjunto, lo cual es muy importante en programas de conservación en bancos de semillas y mejoramiento genético (Thachuk *et al.*, 2009).

Cabe resaltar que la utilización de subconjuntos representativos basados en datos de marcadores moleculares SNPs aún no ha sido empleada en estudios de diversidad del maíz, de ahí la importancia del análisis en la presente investigación.

Las características fenotípicas de las poblaciones que integran el subconjunto se presentan en el Cuadro 12.

Cuadro 12. Promedios de los caracteres morfológicos del subconjunto representativo de 10 poblaciones de la raza Ratón de Coahuila.

Poblaciones del subconjunto representativo										
Variabes	I55	T1	I3	I59	I64	I76	I10	B11	I15	B32
Altitud (msnm)	I	T	I	I	I	I	I	B	I	B
Floración masculina (d)	72.8	79.1	85.9	82.9	81.9	74.6	83.5	81	79.8	69.8
Floración femenina (d)	73.4	79.9	88.6	84.3	83.5	76.1	84	81.6	80.8	72.1
Rendimiento (t ha ⁻¹)	5.1	6.3	5.9	5.9	6.5	4.6	6.6	5.6	6.3	4.5
Altura planta (cm)	166.4	203.8	198.9	207	211.5	171	210.1	183.7	208.8	166.5
Longitud hoja (cm)	77.5	88.5	91.4	90.5	92.5	82.1	93.7	78.3	87.7	79.3
Ancho hoja (cm)	7.5	8.8	8.7	8.7	8.4	8	8.9	8.8	8.3	7.3
Hojas arriba mazorca (cm)	4	5	5	4.6	4.8	4.5	4.8	4.4	4.8	4.3
Número de espiguillas primarias	10.8	12.7	16.2	12.9	15.4	13.7	13.2	14.2	18	14.2
Longitud total espiga (cm)	63.1	64.3	61.5	68.9	65.2	57.6	64.3	54.5	61.9	60.8
Número de hileras	13.3	14.2	12.3	14.9	12.8	15.2	14.6	13.7	14.5	12.7
Granos por hilera	31.6	29.4	30.9	31.3	33.3	28.4	30.3	30.6	35.8	23.9
Longitud mazorca (cm)	13.9	14.4	14.8	15.5	15.4	12.7	13.6	13.2	14.2	12.2
Diámetro mazorca (cm)	4.2	4.5	4.2	4.5	4.2	4.5	4.7	4.6	4.4	4.5
Desgrane (%)	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.8
Longitud grano (cm)	1.1	1.2	1.1	1.2	1.2	1.1	1.2	1.2	1.3	1.1
Ancho grano (cm)	0.8	0.9	0.9	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	0.8	1
Espesor grano (cm)	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3	0.4

T= altitud de transición; I=altitudes intermedias; B= altitudes bajas.

El subconjunto representativo de la raza Ratón de Coahuila calculado mediante los SNPs, contiene poblaciones adaptadas a alturas de transición, intermedias y bajas.

La descripción del subconjunto representativo indica que su ciclo vegetativo es de 69 a 86 días, el rendimiento oscila entre 4.5 y 6.6 t ha⁻¹; la altura de planta oscila entre 166.4 y 211.5 cm. Tiene de 4 a 5 hojas arriba de la mazorca, con una longitud de 77.5 a 93.7 cm y un ancho de 7 a 9 cm. Las espigas tienen longitudes de 54.5 a 68.9 cm y de 11 a 18 espiguillas primarias.

Las mazorcas se distinguen por tener de 12 a 15 hileras, de 23 a 38 granos por hilera, longitudes de 12 a 18 cm, diámetros de mazorca de 4.2 a 4.5 cm y un porcentaje de desgrane de 0.80%. La longitud de grano varía de 1.0 a 1.3 cm, el ancho de grano de 0.8 a 0.9 cm y espesor de 0.4 cm en promedio.

Estos valores coinciden con caracterizaciones morfológicas y de potencial de rendimiento realizadas por Rincón *et al.* (2010), Nájera *et al.* (2010), Rincón y Ruiz (2015), Rincón-Sánchez y Ruiz-Torres (2018) y Espinosa *et al.* (2019) quienes también mencionan que el desarrollo y adaptación de las poblaciones de maíz son el resultado de la selección empírica que realizan los agricultores considerando caracteres específicos como forma, tamaño y color de grano, forma de la mazorca, sanidad, ciclo vegetativo entre otros.

Coefficientes de divergencia genética

La representación de la divergencia genética obtenida con 19 caracteres e índices fenotípicos (distancia fenotípica) y la estimación de divergencia genética mediante los 53,932 SNPs (distancia genética) fueron comparadas mediante el coeficiente de correlación (Figura 5).

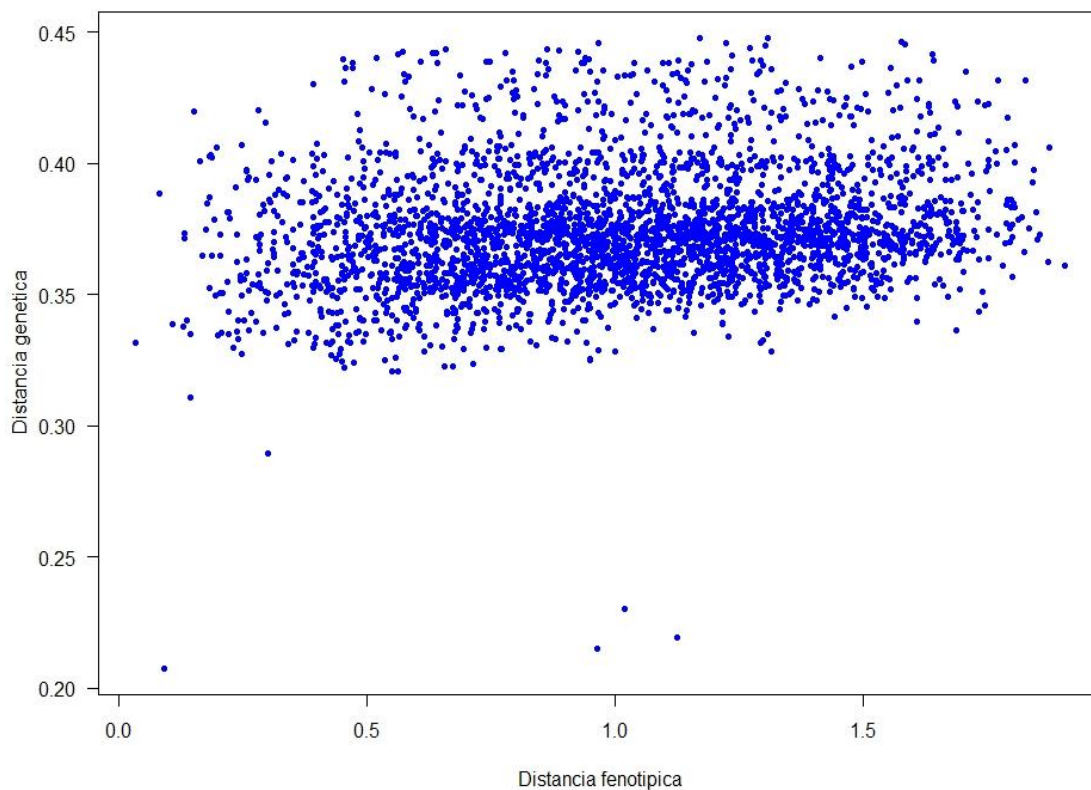


Figura 5. Dispersión gráfica de los valores de distancia genética y fenotípica de los pares posibles entre 81 poblaciones nativas de maíz de la raza Ratón de Coahuila.

En la Figura 5 se observa una asociación positiva, que de acuerdo con el análisis de correlación se obtuvo un valor de $r=0.18$, lo que es un valor bajo y no significativo entre los marcadores moleculares (SNPs) y los caracteres agronómicos y morfológicos (planta, espiga, mazorca y grano). Esto indica que el 18% de la variación morfológica se explica por la variación molecular de los SNPs, por lo tanto, estos dos conjuntos de datos independientes no muestran el mismo patrón de diversidad genética.

Según Rebourg *et al.* (2001), las distancias de marcadores moleculares pequeñas están asociadas con distancias fenotípicas pequeñas, pero los valores altos de distancias de marcadores corresponden a un rango más amplio de distancias fenotípicas. Gunjaca *et al.* (2008) afirmaron que los individuos genéticamente distantes podrían tener un fenotipo similar o diverso, pero los individuos genéticamente vinculados podrían tener un fenotipo similar.

Babic *et al.* (2016) obtuvieron valores de $r=0.27$ y sugieren que los genotipos débil y moderadamente relacionados, según la evaluación de marcadores moleculares, pueden exhibir un fenotipo significativamente diferente. Cuando la similitud molecular aumenta, se reduce la densidad de puntos observados en la figura y también se presenta una tendencia hacia el aumento de las similitudes morfológicas.

Estos resultados fueron similares a los de Ristic *et al.* (2013), donde se encontraron correlaciones bajas y no significativas entre marcadores moleculares y caracteres morfológicos, concluyendo que los datos morfológicos y genéticos son complementarios para lograr la evaluación más precisa de la diversidad genética del maíz.

Los bajos coeficientes de correlación entre datos fenotípicos y genéticos, aun cuando son los mismos genotipos, se debe, a que son valores obtenidos de diferente manera. Por un lado, los datos morfológicos explican la expresión de cada genotipo expuesto a fluctuaciones ambientales y su interacción, así como el número de caracteres evaluados. En el caso de los datos genéticos provienen

directamente de muestras de ADN y solo explican la contribución genética sin tomar en cuenta los factores ambientales (Govindaraj *et al.*, 2015).

Vega-Álvarez *et al.* (2017) señalan que la baja correlación de datos fenotípicos y genéticos se debe a que posiblemente existe un entramado genético difuso que no ha logrado diferenciarse claramente de manera paralela con la diferenciación fenotípica de las razas, sobre todo cuando en los análisis genéticos se utilizaron marcadores selectivamente neutros como lo son los de tipo SNPs.

Estos polimorfismos son conocidos como neutros debido a que sus modificaciones nucleotídicas no tienen ningún efecto directo sobre el fenotipo, con raras excepciones, lo que puede estar mostrando la baja correlación encontrada entre la variación genotípica y la fenotípica de este estudio. Un posible aumento de esta correlación podría obtenerse utilizando marcadores tipo Sílico-DArT o PAVs (Presencia/Ausencia de Polimorfismos), donde son presentadas las diferencias genéticas basándose en polimorfismos mayores como deleciones e inserciones.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las que se desarrolló el trabajo, se identificaron 19 caracteres: agronómicos (1), planta (3), espiga (7), mazorca (5) y grano (3) con valores de repetibilidad mayor a 1 útiles para la clasificación de la diversidad del maíz.

El análisis de diversidad con datos morfológicos y genéticos estuvo asociado al área de adaptación de las poblaciones, con algunas inconsistencias en la agrupación, debido a que el análisis genético se basa en las secuencias de ADN, comparados con los valores fenotípicos que son influenciados por el ambiente.

Los valores de Heterocigosidad esperada (H_e) como indicador de la diversidad genética, fueron útiles para determinar la divergencia genética dentro las poblaciones adaptadas a áreas bajas e intermedias.

Se obtuvo un subconjunto representativo estratificado y proporcional a la variación de las poblaciones con datos morfológicos del 15.7 %, en tanto que, en el subconjunto con datos genéticos fue del 20.0%, el cual representó la máxima variación alélica de las poblaciones de la raza Ratón.

Entre los caracteres morfológicos y genéticos se encontró una asociación positiva de $r=0.18$, con un patrón de diversidad asociado a la altitud de procedencia de las poblaciones, lo que indica que, en ambos casos, la variación del maíz está estrechamente relacionada con la altitud, latitud y los gradientes de temperatura y humedad.

REFERENCIAS

- Agarwal, M., N. Shrivastava, and H. Padh. 2008. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Rep.*27(4):617–631.
- Alboukadel, K., and F. Mundt. 2020. Factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses. R package version 1.0.7. <https://CRAN.R-project.org/package=Factoextra>.
- Anderson, E., and H. C. Cutler. 1942. Races of *Zea mays*: I Their recognition and classification. *Ann Mo. Bot. Gard.* 29:69- 88. doi.org/10.2307/2394331
- Aranguren-Méndez., J.A., R. Román-Bravo., W. Isea., Y. Villasmil. y J. Jordana. 2005. Los microsatélites (STR's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 13(1):1-6.
- Arteaga., C.M., A. Moreno., A. Mastretta., A. Vázquez., A. Breña., A. Moreno., L. Eguiarte. y D. Pinero. 2015. Variación genómica en variedades de maíz recolectadas recientemente de México. *Genomics Data* 7:38-45. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gdata.2015.11.002>
- Babic, V., A. Nikolic, V. Andjelkovic, D. Kovacevic, M. Filipovic, V. Vasic, and S. Mladenovic-Drinic. 2016. Marcadores morfológicos versus moleculares AUPOV para la determinación de la variabilidad de líneas endogámicas de maíz. *Revista Chilena de Investigaciones Agropecuarias.*76 (4):417-426.
- Baloch, F. S., A. Alsaleh, M. Q. Shahid, V. Çiftçi, L. E. Sáenz de Miera, M. Aasim, M. Azhar Nadeem, H. Aktaş, H. Ozkan, and R. Hatipoğlu. 2017. A whole genome DArTseq and SNP analysis for genetic diversity assessment in durum wheat from central fertile crescent. *PLoS ONE* 12(1):1-16.
- Barrera-Guzmán., L. A., J. P. Legaria-Solano. y R. Ortega-Paczka. 2020. Diversidad genética en poblaciones de razas mexicanas de maíz. *Revista fitotecnia mexicana*, 43(1):121-125. <https://doi.org/10.35196/rfm.2020.1.121>
- Berardo, N., G. Mazzinelli, P. Valoti, P. Lagana, and R. Redaelli. 2009. Characterization of maize germplasm for the chemical composition of the grain. *J. Agric. Food Chem* 57:2378-2384.
- Beyene, Y., A. M. Botha and A. A. Myburg. 2005. A comparative study of molecular and morphological methods of describing genetic relationships in traditional Ethiopian highland maize. *African Journal of Biotechnology* 4(7):586–595.

- Botstein, D., R. L. White, M. Skolnick, and R. W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 32(3):314–331.
- Cabrera-Toledo., J. M., A. Carballo-Carballo., J. A. Mejía-Contreras. y H. Vaquera-Huerta. 2019. Caracterización de poblaciones sobresalientes de maíz de la raza Zapalote Chico. *Revista fitotecnia mexicana*, 42(3), 269-279. doi.org/10.35196/rfm.2019.3.269-279
- Caldu-Primo, J.L., A. Mastretta-Yanes., A. Wegier, and D. Piñero. 2017. Finding a needle in a haystack: distinguishing Mexican maize landraces using a small number of SNPs. *Frontiers in Genetics* 8:45. <https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00045>
- Caraballos T., V., A. Mejía C., S. Balderrama C., A. Carballo C. y F. Castillo G. 2000. Divergencia en poblaciones de maíz nativas de Valles Altos de México. *Agrociencia* 34: 167-174.
- Castillo G., F., B. E. Herrera C., R. Ortega P., M. M. Goodman y M. E. Smith. 2000. Diversidad genética del maíz y su aprovechamiento *in situ* a nivel regional. *In: Mejoramiento Participativo en América Latina y el Caribe*. Disponible en línea <http://www.prgaprogram.org/cds/fmp/NADINEPDF/CASTILLO2.pdf>.
- Cervantes S., T. 1976. Efectos genéticos de interacción genotipo-ambiente en la clasificación de las razas mexicanas de Maíz. Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. 139 p.
- Chávez-Servía, J.L., D. Flores P. y J.C. Carrillo R. 2011. Complejos raciales de poblaciones de maíz evaluadas en San Martín Huamelulpan, Oaxaca. *Ra Ximhai* 7(1): 107-115.
- Chen, J., C. Zavala, N. Ortega, C. Petroli, J. Franco, J. Burgueño, and S. J. Hearne. 2016. The development of quality control genotyping approaches: A case study using elite maize lines. *PloS one* 116, e0157236.
- Chen, T., P. Alisha, W. Wang, X. Gao, and L. Zhang. 2018. Population structure of Chinese southwest wheat germplasms resistant to stripe rust and powdery mildew using the DArT-seq technique. *Ciencia Rural* 48(4):1-9.
- CONABIO. 2011. Base de datos del proyecto global “Recopilación, generación, actualización y análisis de información acerca de la diversidad genética de maíces y sus parientes silvestres en México”. Octubre de 2010. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. 98 p.
- CONABIO. 2020. Razas de maíz de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Disponible en línea.

<https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/alimentos/maices/razas-de-maiz>. (Consultado febrero 2022).

- Doebley, J.F., M.M. Goodman, and C.W. Stuber. 1985. Isozyme variation in the races of maize from México. *Am J Bot* 72(5): 629-639.
- Elings, A. 2000. Estimation of leaf area in tropical maize. *Agron. J.* 92: 436-444.
- Espinosa T., L. C., F. Rincón S., N. A. Ruíz T., J. M. Martínez R y A. Benavides M. 2019. Respuesta ambiental de poblaciones nativas de maíz del sureste de Coahuila, México. *Nova Scientia.* 11(23):108-125. doi.org/10.21640/ns.v11i23.1931.
- Falconer, D.S., and T.F. Mackay. 1996. *Introduction to Quantitative Genetics* (4 th. edition). Editorial: Adisson Wesley Longman Limited. Harlow, England.
- Flores-Pérez, L., P.A. López, A. Gil-Muñoz, A. Santacruz-Varela y J.L. Chávez-Servía. 2015. Variación intra racial de maíces nativos del altiplano de Puebla, México. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCUYO* 18(1):1-17.
- Franco, T.L. e R. Hidalgo. 2003. Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Boletín técnico nº 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. 89 p.
- Franco, J., J. Crossa, M. L. Warburton, and S. Taba. 2006. Sampling strategies for conserving maize diversity when forming core subsets using genetic markers. *Crop Science*, 46(2):854-864.
- Goodman, M. M., and E. Paterniani. 1969. The races of maize: III. Choices of appropriate characters for racial classification. *Econ. Bot.* 23: 265-273.
- Goodman, M.M., and R.M. Bird. 1977. The races of maize IV: tentative groupings of 219 Latin American races. *Econ. Bot.* 31:204-221.
- Goodman, M.M. 1972. Distance analysis in biology. *Syst. Zool.* 21:174-186.
- Goodman, M.M., and W.L. Brown. 1988. Races of corn. *In*: Sprague, G.F and Dudley, J.W. (Eds.) *Corn and corn improvement*. Agronomy Monographs No.18. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin. pp. 33 – 79.
- González C., M.E., N. Palacios R., A. Espinoza B. y C. A. Bedoya S. 2013. Diversidad genética en maíces nativos mexicanos tropicales. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36(3):329-338.
- González-Martínez, J., M. Rocandio-Rodríguez., J. C. Chacón-Hernández., V. Vanoye-Eligio y Y. D. R. Moreno-Ramírez. 2018. Distribución y diversidad de maíces nativos (*Zea mays* L.) en el altiplano de Tamaulipas, México. *Agroproductividad*, 11(1):124-130.

- González-Martínez, J., M. Rocandio-Rodríguez, A. R. Contreras-Toledo, S. Joaquín-Cancino, V. Vanoye-Eligio, J. C. Chacón-Hernández y A. Hernández-Bautista. 2020. Diversidad morfológica y agronómica de maíces nativos del altiplano de Tamaulipas, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 43(4), 361-361.
- Govindaraj M., M. Vetriventhan, and M. Srinivasan. 2015. Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: an overview of its analytical perspectives. *Genetics Research International* 2015:1-14. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/431487>
- Gunjaca, J., I. Buhinicek, M. Jukic, H. Sarcevic, A. Vragolovic, Z. Kozic, ... and I. Pejic. 2008. Discriminating maize inbred lines using molecular and DUS data. *Euphytica* 161(1): 165-172. doi:10.1007/s10681-007-9518-z.
- Hernández C., J. M. y G. Esquivel E. 2004. Rendimiento de grano y características agronómicas en germoplasma de maíz de valles altos de México. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 27 (Núm. Especial 1): 27-31.
- 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 (1): 3-30.
- Herrera C., B. E., F. Castillo G., J. J. Sánchez G., R. Ortega P. y M. M. Goodman. 2000. Caracteres morfológicos para valorar la diversidad entre poblaciones de maíz en una región: caso la raza chalqueño. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 23: 335-353.
- Herrera-Saucedo., V., A. Santacruz-Varela., M. Rocandio-Rodríguez., L. Córdova-Téllez., Y. R. Moreno-Ramírez. y C.A. Hernández-Galeno. 2019. Diversidad genética de maíces nativos del norte de México analizada mediante microsatélites. *Agrociencia* 53(4):535-548.
- IBPGR. 1991. Descriptors for maize. International Maize and Wheat Improvement Center. México City/IBPGR. Rome Italy. 87p.
- International Seed Testing Association (ISTA). 2009. International Rules for Seed Testing. The International Seed Testing Association (ISTA). Zürichstr.50 CH-8303 Bassersdorf, Switzerland. ISBN – 13 978-906549-53-8.
- Kilian, A., P. Wenzl, E. Huttner, J. Carling, L. Xia, H. Blois, V. Caig, K. Heller-Uszynska, D. Jaccoud, C. Hopper, M. Aschenbrenner-Kilian, M. Evers, K. Peng, C. Cayla, P. Hok, and G. Uszynski. 2012. Diversity arrays technology: a generic genome profiling technology on open platforms. *Data Production and Analysis in Population Genomics: Methods and Protocols* 888:67-89.

- Le, S., J. Josse, and F. Husson. 2008. FactoMineR: an R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software*, 25(1):1-18.
- López R., G., A. Santacruz, A. Muñoz, F. Castillo, L. Córdova y H. Vaquera. 2009. Perfil Isoenzimático de maíces nativos del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, México. II. Variación dentro de grupos. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32(3):177-188.
- Maechler, M., P. Rousseeuw, A. Struyf, M. Hubert, and K. Hornik. 2022. Cluster: Cluster Analysis Basics and Extensions. R package version 2.1.3.
- Martínez-Sánchez, J., N. Espinosa-Paz y P. Cadena Iñiguez. 2017. Caracterización morfológica de poblaciones de maíz nativo (*Zea mays* L.) en Chiapas, México. *Agroproductividad* 10(9): 26-33.
- Mapes S., C., y L.M. Mera O. 2009. Manejo de la diversidad. En T.A. Kato, C. Mapes, L.M. Mera, J.A. Serratos y R.A. Bye (Eds). *Origen y diversificación del maíz: Una revisión analítica* (pp 83-84). México, D.F: Editorial Impresora Apolo, S.A. de C.V.
- Nadeem, M., E. Habyarimana, V. Ciftci, M. Amjad, T. Karakoy, G. Comertpay, M. Qasim, R. Hatipoglu, M. Zahit, F. Ali, S. Ercisli, G. Chung, and F. Baloch. 2018. Characterization of genetic diversity in Turkish common bean gene pool using phenotypic and whole-genome DArTseq-generated silicoDArT marker information. *PLOS ONE* 13(10)1-28. DOI:10.1080/13102818.2017.1400401.
- Nájera C., L. A., F. Rincón S., N. A. Ruíz T., y F. Castillo G. 2010. Potencial de rendimiento de poblaciones criollas de maíz de Coahuila, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 33 (4): 31-36.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York, USA. 512 p.
- 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 (5):855-865. <https://doi.org/10.1007/s10722-016-0405-0>
- Ortega P., R. A. 1985. Descripción de algunas razas mexicanas de maíz poco estudiadas. *En: Variedades y razas mexicanas de maíz y su evaluación en cruzamientos con líneas de clima templado como material de partida para fitomejoramiento*. Traducción al español por el autor. Tesis de Ph. D. Instituto Nacional de Plantas N. I. Vavilov. Leningrado, U. R. S. S.
- Ortega P., R. A. y J. J. Sánchez G. 1989. Aportaciones al estudio de la diversidad de maíz de las partes altas de México. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 12:105-119.

- 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. En: *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.
- Pacheco A., G. Alvarado, F. Rodríguez, J. Crossa y J. Burgueño. 2020. BIO-R (Análisis de biodiversidad con R para Windows). Versión 3.0. International Maize and Wheat Improvement Center.
- Perales, H. and D. Golicher. 2014. Mapping the diversity of maize races in Mexico. *PLoS ONE*. 9(12): 114-657. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114657>
- Perales R., H. y J.M. Hernández C. 2005. Diversidad del maíz en Chiapas. En: González-Espinosa, M.N. Ramírez-Marcial y L. Ruíz-Montoya (coord.). *Diversidad Biológica en Chiapas*. México. 419-438 pp.
- Pineda-Hidalgo, K.V., K.P. Méndez-Marroquín., E. Vega A., J. Chávez-Ontiveros., P. Sánchez-Peña., J. A. Garzón-Tiznado., M. O. Vega-García, and J. A. López-Valenzuela. 2013. Microsatellite-based genetic diversity among accessions of maize landraces from Sinaloa in Mexico. *Hereditas* 150 (4-6):53-59. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.2013.00019.x>
- R Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rangel-Lucio., J. A., A. Santacruz-Varela., L. Córdova-Téllez., J. G. García-Rodríguez., F. Cervantes-Ortiz., H. Vaquera-Huerta. y J. A. Cuenca-Salgado. 2021. Adaptación y selección de maíces nativos en la región del bajo de México por su caracterización morfológica. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 44(2):241-250.
- Rebourg, C., B. Gouesnard, and A. Charcosset. 2001. Large scale molecular analysis of traditional European maize populations. Relationships with morphological variation. *Heredity* 86:574-587. doi:10.1046/j.1365-2540.2001.00869.x.
- Reif, J. C., M. L. Warburton, X. C. Xia, D. A. Hoisington, J. Crossa, S. Taba, J. Muminovic, M. Bohn, M. Frisch, and A. E. Melchinger. 2006. Grouping of accessions of Mexican races of maize revisited with SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics* 113(2):177-185. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0283-5>

- Rincón, F., B. Johnson, J. Crossa, and S. Taba. 1996. Cluster analysis, an approach to sampling variability in maize accessions. *Maydica* 41:307-316
- Rincón S., F., F. Castillo G. y N. A. Ruiz T. 2010. Diversidad y Distribución de los Maíces Nativos en Coahuila, México. Sociedad Mexicana de Fitogenética. Chapingo, México. 123 p.
- Rincón, S. F. y N. A. Ruiz T. 2015. Maíces nativos en el estado de Coahuila, México. *Revista Claridades Agropecuarias*. Edición especial: 40-44. SAGARPA-ASERCA. Disponible en línea <http://www.infoaserca.gob.mx/claridades/especial-201509.asp>.
- Rincón-Sánchez, F. and N.A. Ruiz-Torres. 2018. Assessing maize diversity and defining representative subset by means of selected morphological ear traits. *Plant Genetic Resources* 16(6):488-497. <https://doi.org/10.1017/S1479262118000047>.
- Ristic, D., V. Babic, V. Anđelković, J. Vancetović, S. Mladenović, and D. Ignjatović. 2013. Genetic diversity in maize dent landraces assessed by morphological and molecular markers. *Genetika* 45(3):811-824. 10.2298/GENSR1303811R
- Rocandio-Rodríguez, M., A. Santacruz-Varela, L. Córdova-Téllez, H. López-Sánchez, F. Castillo-González, R. Lobato-Ortiz, J.J. García-Zavala y R. Ortega-Paczka. 2014a. Caracterización morfológica y agronómica de siete razas de maíz de los Valles Altos de México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 37(4):351-361.
- Rocandio-Rodríguez, M., A. Santacruz-Varela, L. Córdova-Téllez, H. López-Sánchez, F. Castillo-González, R. Lobato-Ortiz, and J. J. García-Zavala. 2014b. Detection of genetic diversity of seven maize races from the high central valleys of Mexico using microsatellites. *Maydica* 59(2014):144-151.
- Rodríguez-Pérez, G., F. Zavala-García., C. Ojeda-Zacarías., A. Gutiérrez-Diez., J. E. Trevino-Ramírez. y F. Rincón-Sánchez. 2012. Diversidad de maíces criollos de Nuevo León, México, mediante AFLP y caracteres morfológicos. *Agronomía Mesoamericana* 23(2):29-39.
- Romero-Navarro, J. A., M. Wilcox, J. Burgueño, C. Romay, K. Swarts, and S. Trachsel. 2017. A study of allelic diversity underlying floweringtime adaptation in maize landraces. *Nat. Genet.* 49(3):476–480. doi: 10.1038/ng.3784
- Ruiz, C. J. A., P. N. Durán, G. J. J. Sánchez, P. J. Ron, E. D. R. González, J. B. Holland and G. G. Medina. 2008. Climatic adaptation and ecological descriptors of 42 Mexican maize races. *Crop Science* 48(4):1502–1512.

- Ruiz C., J.A., J.L. Ramírez D., J.M. Hernández C., F. Aragón C., J.D.J. Sánchez G., A. Ortega C., G. Medina G. y G. Ramírez O. 2011. Razas mexicanas de maíz como fuente de germoplasma para la adaptación al cambio climático. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 2(2):365-379.
- SADER. 2019. Maíz grano. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). Disponible en línea: <https://www.gob.mx/siap/articulos/maiz-grano?idiom=es>.(Consulta febrero 2022).
- Saghai-Marooif, M. A., K. M. Soliman, R. A. Jorgensen, and R. Allard. 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81(24):8014-8018.
- Sánchez, J.J. 1989. Relationships among the Mexican races of maize. Unpublished Ph. D. dissertation. North Carolina State University, Raleigh. 187 p.
- Sánchez G., J. J., M. M. Goodman, and J. O. Rawlings. 1993. Appropriate characters for racial classification in maize. *Econ. Bot.* 47: 44-59.
- Sánchez G., J.J., M. M. Goodman, and C. W. Stuber. 2000. Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of México. *Economic Botany* 54:43-59.
- Sansaloni, C., C. Petrolí, D. Jaccoud, J. Carling, F. Detering, D. Grattapaglia, and A. Kilian. 2011. Diversity Arrays Technology (DArT) and next-generation sequencing combined: genome-wide, high throughput, highly informative genotyping for molecular breeding of Eucalyptus. *In: BMC Proceedings. BioMed Central Ltd* 5(7):1-2.
- SAS Institute. 2013. SAS/STAT® 9.3 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc. USA. 5121 p.
- SIAP. 2021. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en línea: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>. (Consulta febrero 2022).
- Sneath P., H. A. and R. R. Sokal. 1973. Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification. W. H. Freeman and Company. San Francisco. 573 p.
- Sobrino, B., M. Brion, and A. Carracedo. 2005. SNPs in forensic genetics: a review on SNP typing methodologies. *Forensic Sci Int.* 154(2):181–194. DOI:10.1080/13102818.2017.1400401.
- Thachuk, C., J. Crossa, J. Franco, S. Dreisigacker, M. Warburton, and G.F Davenport. 2009. Core Hunter: un algoritmo para el muestreo de recursos

- genéticos basado en múltiples medidas genéticas. *Bioinformática BMC*. 10 (1):1-13. <http://www.biomedcentral.com/1471-2105/10/243>
- Van Heerwaarden, J., J. Doebley, W. H. Briggs, J. C. Glaubitz, M. M. Goodman, J. D. Gonzalez, and J. Ross-Ibarra. 2011. Genetic signals of origin, spread, and introgression in a large sample of maize landraces. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 108(3): 1088-1092. doi: 10.1073/pnas.1013011108
- Vega-Alvarez, I., A. Santacruz-Varela, M. Rocandio-Rodríguez, L. Córdova-Téllez, H. López-Sánchez, A. Muñoz-Orozco, and A. Hernández-Bautista. 2017. Genetic diversity and structure of native maize races from Northwestern Mexico. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 55(11):1023-1032. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2017001100008>
- Ward, J. H. 1963. Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association* 58(301): 236-244.
- Wellhausen, E. J., L. M. Roberts y E. Hernández X., en colaboración con P. C. Mangelsdorf. 1951. Razas de Maíz en México, su Origen, Características y Distribución. Oficina de Estudios Especiales. Secretaría de Agricultura y Ganadería. Folleto Técnico 5. México, D. F. 237 p.
- Wickham, H. 2016. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York.
- Wright, S. 1978. *Evolution and the genetics of populations: a treatise in four volumes: variability within and among natural populations*. Chicago: University of Chicago, v.4, 590p.
- Xu, Y. 2010. *Molecular plant breeding*. Experimental Agriculture Wallingford: CABI. 47(1): 734 p.
- Yan, W. 2014. *Crop Variety Trials: Data Management and Analysis*. Editorial: John Wiley & Sons, Inc. Ottawa, Canadá.

