

ESTUDIO CITOGENÉTICO DEL MAÍZ HÍBRIDO SIMPLE H-311 (*ZEAMAYS* SSP. *MAYS*), TEOCINTLE CHALQUEÑO (*ZEAMAYS* SSP. *MEXICANA*) Y SU HÍBRIDO F1 (*ZEAMAYS* SSP. *MAYS* X *ZEAMAYS* SSP. *MEXICANA*)

**Saúl Flores-Maya, Olivares-Carrillo José Luis, Flores-Crespo Lucina Irene
y Rivera-Aguilar, Víctor**

*Unidad de Biología, Tecnología y Prototipos, Facultad de Estudios Superiores
Iztacala, Avenida de los Barrios No 1, Los Reyes Iztacala, CP 54090 Tlalnepantla,
Edo. de México, Tel. 01(5) 56 23 11 34 y Fax 01(5) 56-231225.
E-mail: saulsel@servidor.unam.mx.*

RESUMEN

Se analizó la frecuencia de los quiasmas en profase y metafase I meiótica en células de plantas de maíz híbrido simple H-311 (*Zea mays* ssp. *mays*), teocintle chalqueño (*Zea mays* ssp. *mexicana*) y la F1 (*Zea mays* ssp. *mays* X *Zea mays* ssp. *mexicana*) resultante. La frecuencia de quiasmas en la F1 fue menor que en sus progenitores. En el maíz híbrido simple H-311 el promedio de quiasmas totales por célula fue de 21.88, en el teocintle chalqueño 21.31 y para la F1 16.63. En el maíz híbrido simple H-311 el promedio de quiasmas totales por célula fue de 21.88, en el teocintle chalqueño 21.31 y para la F1 16.63. En las plantas híbridas F1, el apareamiento entre los cromosomas homólogos no fue regular, se presentaron univalentes, trivalentes, tetravalentes, pentavalentes y hexavalentes. Los tres tipos de plantas presentaron un número cromosómico diploide de $2n = 20$. La longitud total promedio por genomio fue de 33.51 μm para el maíz híbrido simple H-311, 33.18 μm para el teocintle chalqueño y 33.33 μm para la F1. La longitud total de los cromosomas de los tres genomios fue muy similar, presentaron una longitud entre 2 y 5 μm . Los tres cariotipos

estuvieron formados por cromosomas metacéntricos y submetacéntricos. El maíz híbrido simple H-311 y el teocintle chalqueño presentaron una estrecha relación filogenética, dado que tienen el mismo número cromosómico, así como una longitud y relación de brazos similar en sus cromosomas, además de haber apareamiento e intercambio genético entre los cromosomas de ambas plantas cuando se presentan en el híbrido F1.

Palabras clave: quiasma, cromosoma B, cariotipo, *Zea mays* ssp. *mays*, *Zea mays* ssp. *mexicana*.

ABSTRACT

Meiotic prophase and metaphase I chiasma frequency was analyzed in cells of maize hybrid simple H-311 (*Zea mays* ssp. *mays*), teosintle chalqueño (*Zea mays* ssp. *mexicana*) and their resulting hybrid F1 (*Zea mays* ssp. *mays* X *Zea mays* ssp. *mexicana*). Chiasma frequency was smaller in F_1 than in its progenitors. Mean total chiasms per cell was 21.88 in maize hybrid simple H-311, 21.31 in teosintle chalqueño and 16.63 in the F_1 .

In the hybrids, the crossing between homologous chromosomes was irregular, presenting univalents, trivalents, tetravalents, pentavalents and hexavalents. All three plant types presented a diploid chromosome number of $2n = 20$. The mean total length per genome was $33.51 \mu\text{m}$ in maize hybrid simple H-311, $33.18 \mu\text{m}$ in teosintle chalqueño and $33.33 \mu\text{m}$ in the F1. The total length of the chromosomes of all three genomes was similar, with a length between 2 and $5 \mu\text{m}$. The three karyotypes constituted of metacentric and submetacentric chromosomes. Maize hybrid simple H-311 and teosintle chalqueño presented a close phylogenetic relationship, as they had the same chromosome number and similar relationships and lengths between chromosome arms. Moreover, the hybrid F1 genome presents chromosome pairing and genetic exchange between chromosomes of both plants.

Key words: chiasma, B chromosome, karyotype, *Zea mays* ssp. *mays*, *Zea mays* ssp. *mexicana*.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* ssp. *mays*) está estrechamente relacionado con la planta silvestre llamada teocintle, de la cual se conocen: *Zea perennis*, teocintle perenne tetraploide; *Zea diploperennis*, teocintle perenne anual; *Zea mays* ssp. *parviglumis* y *Zea mays* ssp. *mexicana*, son teocintles anuales. La especie tetraploide tiene 40 cromosomas somáticos, el teocintle diploperenne y los teocintles anuales tienen el mismo número cromosómico $2n = 20$, como el maíz. Del teocintle *Zea mays* ssp. *mexicana* se reconocen las variedades Novogame, Mesa central, Durango y chalqueño (Pääbo, 1999; Coe, 2001; Pressoir y Berthaud, 2004).

Los teocintles pueden ser cruzados con el maíz y producir híbridos parcialmente fértiles como sucede con la forma perenne, o híbridos fértiles al cruzar el maíz con las formas anuales. En estudios de recombinación se ha observado que entre los cromosomas del maíz y sus respectivos homólogos en las variedades anuales Durango y Florida (*Zea mays* ssp. *parviglumis*), el entrecruzamiento entre los marcadores c-wx del brazo corto del cromosoma 9 es muy bajo o no lo hay, mientras en los cromosomas del maíz y del teocintle chalqueño el entrecruzamiento en la misma región es similar al que se presenta entre los cromosomas del maíz (Kato, 1984). Los cromosomas del maíz y del teocintle han sido estudiados en la fase de paquiteno, demostrando su gran similitud en la longitud, relación de brazos y ubicación del centrómero, cromómeros conspicuos y presencia de nudos cromosómicos, además de ciertos cromosomas adicionales denominados cromosomas B (González-Sánchez *et al.*, 2003). Sin embargo, hay poca información sobre la morfología de los cromosomas del maíz, del teocintle y del híbrido resultante en la metafase mitótica. En cuanto al apareamiento de los cromosomas se sabe que en la fase de diacinesis de la meiosis de los híbridos F1 (maíz X teocintle Florida) falta apareamiento entre dos cromosomas, encontrándose como univalentes o unidos por un solo extremo como en los híbridos del maíz X teocintle Durango, indicando quizá una reducción de quiasmas. Sin embargo, hay escasa información sobre apareamiento en diacinesis (profase meiótica) y frecuencia de quiasmas en la metafase I meiótica, especialmente en híbridos F1 del maíz X teocintle chalqueño (Kato, 1984).

El estudio de las semejanzas cromosómicas entre maíz y teocintle es importante porque

puede confirmar la información acerca de sus relaciones filogenéticas y probablemente de mecanismos de evolución cromosómica ocurridos, ya que están estrechamente relacionados (Kato, 1984). Aunado a esto, en los últimos años se ha dado auge a los estudios moleculares (Gourmet y Rayburn, 1996; Goodnight, 2000; Stewart *et al.*, 2003), los cuales dan información muy específica por medio de marcadores en determinados cromosomas. Sin embargo, esto no debe restar importancia a los estudios citogenéticos con métodos clásicos, los cuales son un primer paso y permiten además observar y analizar el comportamiento conjunto de todo el genomio.

El presente estudio tuvo como objetivo contribuir al conocimiento sobre las características cariotípicas mitóticas, el comportamiento del apareamiento cromosómico en diacinesis y el análisis de la variación en la frecuencia de quiasmas en la metafase I en un híbrido F1 (maíz híbrido simple H-311 X teocintle chalqueño) con respecto a sus progenitores.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material genético

Para este estudio se utilizaron semillas del maíz híbrido simple H-311 (*Zea mays* ssp. *mays*) y del teocintle chalqueño (*Z. mays* ssp. *mexicana*). Las semillas del maíz fueron adquiridas en la empresa Berentsen (Central de Abastos F-42-A, DF) y las del teocintle fueron recolectadas a orillas de un campo de cultivo de maíz sobre la carretera Chalco-Amecameca frente al poblado de Chalco, Estado de México (fig. 1).

Parte de las semillas fue sembrada en el invernadero de la Facultad de Estudios

Superiores Iztacala en el ciclo agrícola primavera-verano del 2002, de acuerdo a la técnica de Jugenheimer (1990). De estas plantas se recolectaron y almacenaron bajo refrigeración algunas espigas, de las cuales 20 espigas del maíz y 20 del teocintle fueron analizadas.

Hibridización

Por otra parte, se hicieron cruza directas y recíprocas. Las inflorescencias femeninas de las plantas del maíz fueron polinizadas con granos de polen de las plantas del teocintle y viceversa para obtener las cruza recíprocas. Ambas polinizaciones se llevaron a cabo con el siguiente procedimiento: antes de que los estilos de las inflorescencias femeninas fueran visibles, el jilote fue cubierto con una bolsa encerada para evitar fecundación por polen no deseado. Un día antes de la polinización los jilotes fueron preparados, lo cual se hizo cortando los estilos de cada jilote al ras de las hojas que los envolvían. Esto se hizo con el objeto de que al momento de efectuar las polinizaciones, dichos estilos tuvieran un crecimiento uniforme, tratando con esto que los granos de polen quedaran situados en un plano más o menos uniforme y asegurar un mayor número de óvulos fecundados. Después los jilotes fueron cubiertos nuevamente hasta alcanzar la polinización. Cuando las inflorescencias masculinas empezaron a soltar polen, muy temprano antes de que saliera el sol y se presentara la dehiscencia, fueron tomadas de las espigas algunas anteras y colocadas con bolsas enceradas, previamente preparadas con tul, en la parte superior. Entonces el jilote fue descubierto y rápidamente se colocó una bolsa conteniendo las anteras en la zona con tul, ésta fue fijada a la base de la mazorca, doblada y

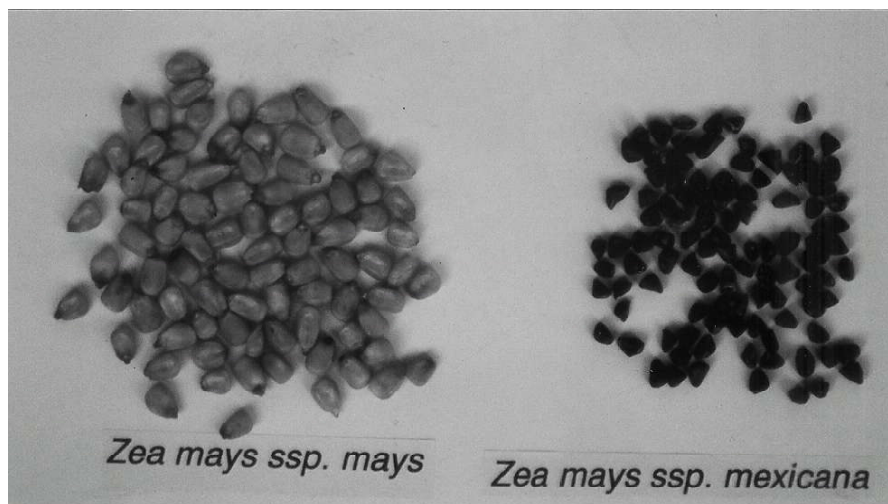


Fig. 1. Semillas de maíz híbrido H-311 (*Zea mays ssp. mays* y teocintle chalqueño (*Zea mays ssp. mexicana*).

engrapada en la parte superior para prevenir una posible contaminación con polen dispersado por el viento o diversos insectos (Aguirre y Kato, 1979).

De las semillas híbridas obtenidas, una parte fue nuevamente sembrada en el mismo campo de cultivo en el ciclo agrícola primavera-verano del 2003 y posteriormente de las plantas híbridas se recolectaron y almacenaron las espigas para su estudio.

Obtención del material citológico. **Preparaciones mitóticas**

Para la observación de los cromosomas mitóticos, las semillas del maíz híbrido simple H-311, las del teocintle chalqueño y las de los híbridos F1, fueron germinadas en cajas de petri en una incubadora a 30°C y después de tres días se tomó el ápice radicular de cada una de ellas. Estos ápices fueron tratados de acuerdo a la técnica citogenética de García (1988), para obtener células en metafases iniciales.

Preparaciones meióticas

Para la observación de los cromosomas en diacinesis y metafase I, en las variedades del maíz híbrido simple H-311, del teocintle chalqueño y de los híbridos resultantes, las preparaciones fueron hechas con la técnica tradicional del carmín propiónico, siguiendo la descripción dada por García (1988).

De cada cromosoma, se determinó la longitud de cada uno de los brazos. La relación de brazos se calculó dividiendo la longitud del brazo largo entre la del brazo corto y fueron clasificados de acuerdo a la posición del centrómero (Levan *et al.*, 1964).

Para los cromosomas meióticos las observaciones se llevaron a cabo en 400 aumentos en las fases de diacinesis y metafase I. Fueron observadas 200 células de 20 plantas (10 células por cada una) para cada tipo de variedad y fase.

El conteo del número de quiasmas se hizo basándose en la interpretación dada por Darlington (1934) y Ward (1976, 1979) para la configuración de cada bivalente en las células de cada planta analizada. Se contó el número de quiasmas intercalares y distales y el total por bivalente. De la suma del número de quiasmas de los 10 bivalentes se obtuvo su frecuencia por célula.

Análisis estadístico

Con el fin de determinar si había diferencias estadísticamente significativas entre las variedades progenitoras y sus híbridos, así como entre la fase de diacinesis y metafase I, y tomando en cuenta que los datos son independientes y se distribuyen de manera normal, se llevó a cabo un análisis de varianza para dos factores, los cuales fueron la variedad y la fase, con una variable de respuesta, el número de quiasmas (Durán *et al.*, 2005). Para determinar cuál o cuáles medias diferían, se aplicó una prueba de comparación múltiple de medias (prueba de Tukey) (Sokal y Rohlf, 1995).

Considerando que el número total de quiasmas lo determina la suma de quiasmas distales e intercalares, se utilizó un análisis de correlación simple para determinar si había alguna diferencia en la asociación entre el número total de quiasmas con los intercalares y distales, las cuales son variables aleatorias.

Para determinar si había diferencias estadísticamente significativas entre la longitud total de cromatina entre los tres tipos de plantas así como entre la longitud total de cada uno de los 10 cromosomas mitóticos, con sus respectivos homólogos, se realizó un análisis de varianza para cada uno de los 10 cromosomas teniendo como

factor la variedad. Se aplicó este análisis tomando en cuenta que los datos fueron independientes y se distribuían de manera normal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Frecuencia de quiasmas

Los promedios del número de quiasmas totales, intercalares y distales, por célula de las variedades estudiadas en el presente trabajo, se muestran en el cuadro 1. Los datos del análisis de varianza para el número de quiasmas en diferentes posiciones en las variedades del maíz híbrido simple H-311, del teocintle chalqueño y de la F1 aparecen en el cuadro 2. En este cuadro se observó que el valor de F calculado y el valor establecido por la F de tablas indica que hubo diferencias significativas entre las medias del número de quiasmas, lo cual sugiere ciertas modificaciones en el genoma de una o ambas variedades, como lo son: diversas inversiones encontradas en variedades de teocintles en México, entre ellos el teocintle chalqueño (Kato, 1984); translocaciones, o bien por mutaciones en loci genéticos como los que marcan las diferencias morfológicas entre el maíz y el teocintle (Doebley y Stec, 1991; Doebley, 1993; Paterson *et al.*, 1995).

La frecuencia de quiasmas totales (cuadro 1) obtenida para maíz híbrido simple H-311 fue de 21.88 y 21.02 y de 23.31 y 21.63 para teocintle chalqueño en metafase I y diacinesis, respectivamente. Estos datos concuerdan con los rangos estimados para la frecuencia de quiasmas en *Zea mays* que van de 17.4 a 25.0 por célula (Nils-Otto *et al.*, 1993).

Cuadro 1. Promedio y desviación estándar para el número de quiasmas por célula en diacinesis y metafase I meiótica. Datos obtenidos de 200 células observadas.

VARIEDAD	FASE $\bar{x} \pm SD$					
	Metafase I	Diacinesis	Metafase I	Diacinesis	Metafase I	Diacinesis
	Quiasmas totales		Quiasmas intercalares		Quiasmas distales	
Maíz híbrido simple H-311	21.88 $\pm$ 0.7	21.02 $\pm$ 1.8	5.84 $\pm$ 1.40	4.26 $\pm$ 1.9	16.12 $\pm$ 0.6	16.76 $\pm$ 1.17
Teocintle chalqueño	23.31 $\pm$ 1.8	21.63 $\pm$ 2.4	7.1 $\pm$ 1.3	5.36 $\pm$ 1.9	16.20 $\pm$ 0.93	16.27 $\pm$ 1.0
Maíz híbrido simple H-311 X Teocintle chalqueño	16.63 $\pm$ 1.0	16.90 $\pm$ 0.4	1.71 $\pm$ 0.7	1.69 $\pm$ 0.4	14.9 $\pm$ 0.94	15.21 $\pm$ 0.34
Teocintle chalqueño X Maíz híbrido simple H-311	16.20 $\pm$ 0.5	16.69 $\pm$ 1.1	1.48 $\pm$ 0.42	1.65 $\pm$ 0.62	14.72 $\pm$ 0.42	15.02 $\pm$ 0.88

A pesar de que el promedio en teocintle chalqueño (5.36) para los quiasmas intercalares en la fase de diacinesis fue mayor a los del maíz híbrido simple H-311 (4.26) y mientras que en los quiasmas distales, en la misma fase, el promedio para las plantas de maíz híbrido simple H-311 (16.76) fue superior al teocintle chalqueño (16.27), la prueba de Tukey (comparación múltiple de medias) señaló que en esta fase las variedades progenitoras no mostraron variación significativa en la frecuencia de quiasmas intercalares, distales y quiasmas totales (cuadro 3).

Varios estudios han demostrado que los cambios en la frecuencia de entrecruzamientos son debidos a alteraciones en la estructura genética (Nils-Otto *et al.*, 1993; Doebley *et al.*, 1995). En ambas fases, siendo los valores de la frecuencia de quiasmas totales

y distales tan similares en teocintle chalqueño y maíz híbrido simple H-311 (cuadro 3), podría esperarse que la constitución de los genes que regulan el entrecruzamiento fuera muy parecida debido a la estrecha relación filogenética entre ambas variedades, no obstante, las diferencias numéricas en la frecuencia de quiasmas intercalares, no desde el punto de vista estadístico, podría estar dada por pequeñas modificaciones en la estructura genética que se ha venido dando a través del tiempo en cada una de las dos variedades, por la selección natural en el teocintle chalqueño y por la mano del hombre en el maíz híbrido simple H-311 al ir seleccionando aquellas características acordes a sus necesidades.

En la metafase I, los quiasmas totales e intercalares tuvieron diferencias

Cuadro 2. Análisis de la varianza para el número de quiasmas en diferente posición en las variedades de *Zea mays* ssp. *mays* (híbrido simple H-311), *Zea mays* ssp. *mexicana* (teocintle chalqueño) y la F1 (*Zea mays* ssp. *mays* X *Zea mays* ssp. *mexicana*). *Diferencia significativa, $\alpha = 0.05$.

Cuadro 3. Prueba de Tukey (DMSH), comparación múltiple de las medias de la frecuencia de quiasmas totales (Qt), intercalares (Qi) y distales (Qd) entre las variedades (letras) y en metafase I y diacinesis.

*Diferencia significativa, $\alpha=0.05$.

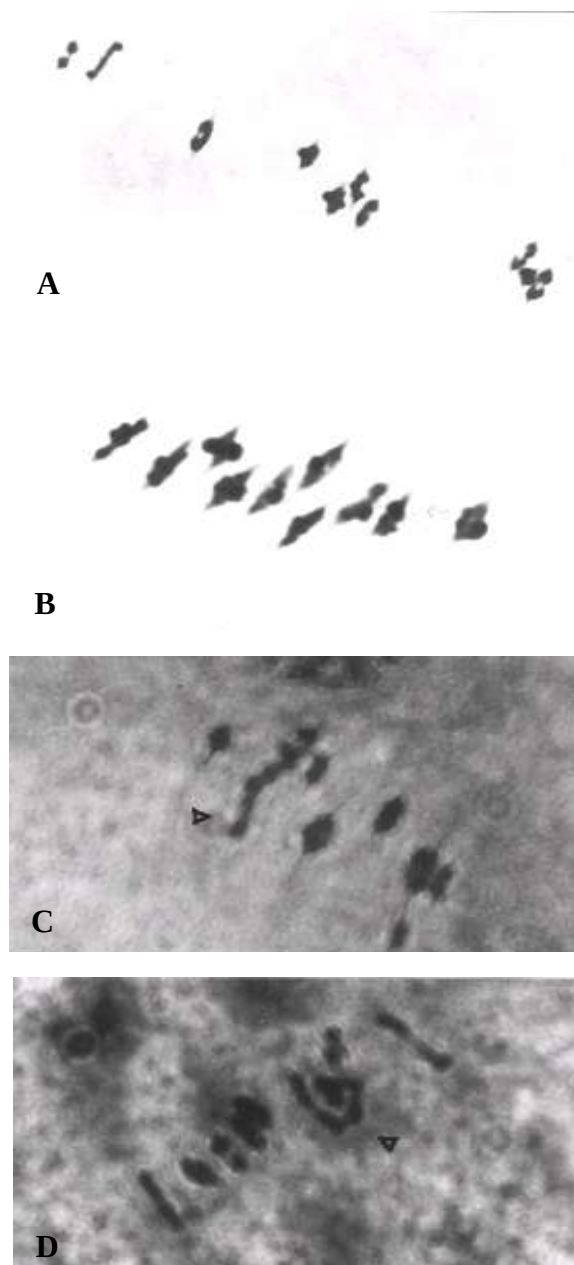


Fig. 2. Diferentes configuraciones en bivalentes (metafase I) determinados por el número y posición de quiasmas. A) *Zea mays* ssp. *mays*; B) *Zea mays* ssp. *mexicana*; C y D) F1 (*Zea mays* ssp. *mays* X *Zea mays* ssp. *mexicana*) (80X, campo claro A y B; contraste de fases C y D).

estadísticamente significativas en las variedades de teocintle chalqueño (23.31 y 7.10) comparando con la frecuencia obtenida del maíz híbrido simple H-311 (21.88 y 5.84), respectivamente (cuadro 3, fig. 2), mientras que en los quiasmas distales no hubo diferencias significativas, lo cual indicó que la diferencia en los quiasmas totales entre el maíz híbrido simple H-311 y el teocintle chalqueño está dada por los quiasmas intercalares. Posiblemente, el incremento en la frecuencia de quiasmas intercalares en metafase I del teocintle chalqueño con respecto a la diacinesis, podría ser debido a errores en la interpretación de los quiasmas, pues en la metafase I incrementa la condensación de los cromosomas reduciendo la resolución citológica.

Las variedades híbridas mostraron una frecuencia muy similar entre sí en los quiasmas totales, intercalares y distales tanto en la fase de diacinesis como en la metafase I (cuadros 1 y 2), con base en los resultados obtenidos del análisis de varianza se procedió aplicar la prueba de Tukey, que permitió observar que no existe diferencia estadísticamente significativa en las medias de los tres tipos de la frecuencia de quiasmas entre el maíz híbrido simple H-311 X teocintle chalqueño y teocintle chalqueño X maíz híbrido simple H-311 (cuadro 3).

Al comparar la frecuencia de quiasmas intercalares entre progenitores y las variedades híbridas, se observó una disminución significativa en éstas. Tomando como el 100% la frecuencia de quiasmas intercalares de los progenitores, hubo una disminución en los híbridos de 70.92 %. Por otro lado, en los quiasmas distales hubo una disminución de aproximadamente 6% con respecto a los progenitores.

Fue muy notorio que los quiasmas intercalares sufrieran una mayor disminución que los quiasmas distales. Resultados muy similares han sido obtenidos en trabajos de hibridización de maíz con teocintle, por ejemplo: Kato (1984) observó en la fase de diacinesis en híbridos maíz X teocintle Durango, maíz X teocintle Florida una gran proporción de configuraciones en forma de aro, indicando que estaban presentes quiasmas en la parte terminal de las cromátidas.

Esto sugiere que la zona distal de los cromosomas es menos susceptible a modificaciones en su estructura genética que la zona intercalar de un cromosoma, o bien, que es más factible el apareamiento de zonas homólogas localizadas en la región distal de cromosomas diferentes, que cuando dichas regiones homólogas están en posiciones intercalares.

Al analizar la frecuencia de quiasmas en la F1 del maíz híbrido simple H-311 X teocintle chalqueño y de la F1 del teocintle chalqueño X maíz híbrido simple H-311 en diacinesis y metafase I, no se encontraron diferencias significativas, por tanto, se observó que no hubo terminalización, que es el movimiento de los quiasmas desde el sitio donde se originaron en un cromosoma hacia los extremos del mismo, pues en metafase I no se vieron incrementados los quiasmas distales o disminuidos los intercalares (cuadros 2 y 3). De lo contrario, si hubiera terminalización, la frecuencia total de quiasmas se ve reducida en metafase I con respecto a diacinesis, y los quiasmas intercalares disminuyen y aumentan los distales de una fase a otra. Los resultados del presente estudio concuerdan con los obtenidos en los trabajos de Ward (1976, 1979) y Nils-Otto *et al.* (1993), ellos mencionaron que no hay evidencias de

terminalización en maíz al no encontrar diferencias significativas en la frecuencia de quiasmas entre diacinesis y metafase I. Al realizar el análisis de correlación simple, para observar qué tipo de quiasmas (intercalares o distales) afectan principalmente la frecuencia total, se obtuvo un índice de correlación de 0.65 entre los distales contra los totales, lo cual indicó que sí hay correlación entre estos dos tipos de quiasmas. Sin embargo, los quiasmas distales no modifican a los totales tan notoriamente como los intercalares, pues la correlación fue más alta entre la frecuencia de quiasmas intercalares contra totales, siendo de 0.93 su índice de correlación, lo que indica que al incrementar o disminuir los quiasmas intercalares se ven afectados de la misma manera los quiasmas totales (cuadro 1).

Apareamiento cromosómico

En las variedades híbridas, el apareamiento entre los cromosomas homólogos no fue regular, estuvieron presentes univalentes, trivalentes, tetravalentes, pentavalentes y hexavalentes en un 41% de las células examinadas (fig. 3). Estas configuraciones cromosómicas afectan tanto la regularidad de la meiosis como la fertilidad de los gametos que se producen y al formarse gametos no viables se observa disminuida notoriamente la probabilidad de que se establezca en la naturaleza una variedad híbrida con estas características. En el 59% restante de las células examinadas, se presentaron 10 bivalentes, de los cuales algunos presentaban como máximo dos quiasmas y otros estaban unidos sólo por un extremo (fig. 4A).

Como se observa en el cuadro 4 la proporción de univalentes y trivalentes no

fue muy semejante en el híbrido (maíz híbrido simple H-311 X teocintle chalqueño) y el híbrido (teocintle chalqueño X maíz híbrido simple H-311). En este último caso, se presentó un mayor número de estas asociaciones cromosómicas. La presencia de los univalentes es atribuible a la falta de homología entre algunos cromosomas homólogos no apareados, probablemente por la falta o en la diferente distribución de segmentos homólogos en tales cromosomas. Desafortunadamente, por el grado de compactación de los cromosomas en diacinesis y metafase I no es fácil saber qué cromosomas son. Sin embargo, no se descarta el hecho de que el maíz híbrido simple H-311, utilizado para este estudio, haya contribuido genéticamente a la falta de apareamiento entre sus cromosomas y los correspondientes homólogos en teocintle chalqueño, pues en células meióticas de cuatro plantas de maíz es sabido que el apareamiento entre homólogos está controlado por genes en los mismos cromosomas y una mutación de estos loci puede ocasionar una parcial o total inhibición de este evento en algunos individuos (Doebley y Iltis, 1980; González-Sánchez *et al.*, 2003).

La formación de univalentes significa que al menos un cromosoma tiene regiones homólogas con otros cromosomas no homólogos (Darlington, 1934). En este caso los trivalentes, tetravalentes, pentavalentes y hexavalentes son indicadores de translocaciones en el genomio de una o las dos plantas en el transcurso del tiempo. Las translocaciones que más favorecen las configuraciones multivalentes son las terminales, pues permiten la formación de las cadenas o aros (Aguiar-Perecin y Vosa, 1985) que fue lo comúnmente observado en este estudio.

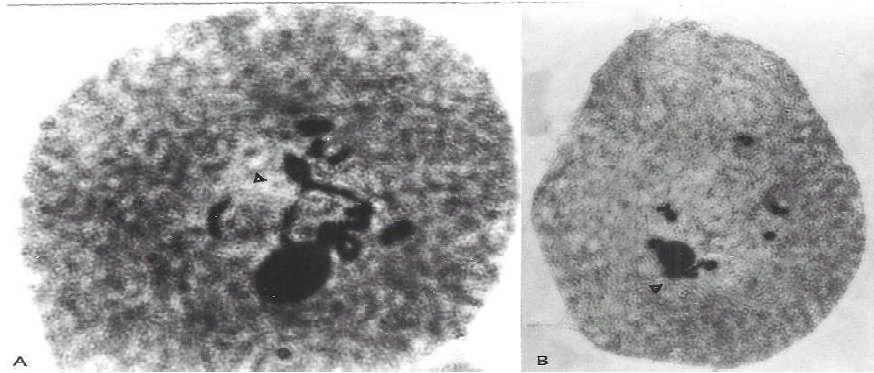


Fig. 3. Células meióticas de la F1 (*Zea mays* ssp. *mays* X *Zea mays* ssp. *mexicana*). En diacinesis con 7 bivalentes y un hexavalente (1000X, contraste de fases A y campo claro B).

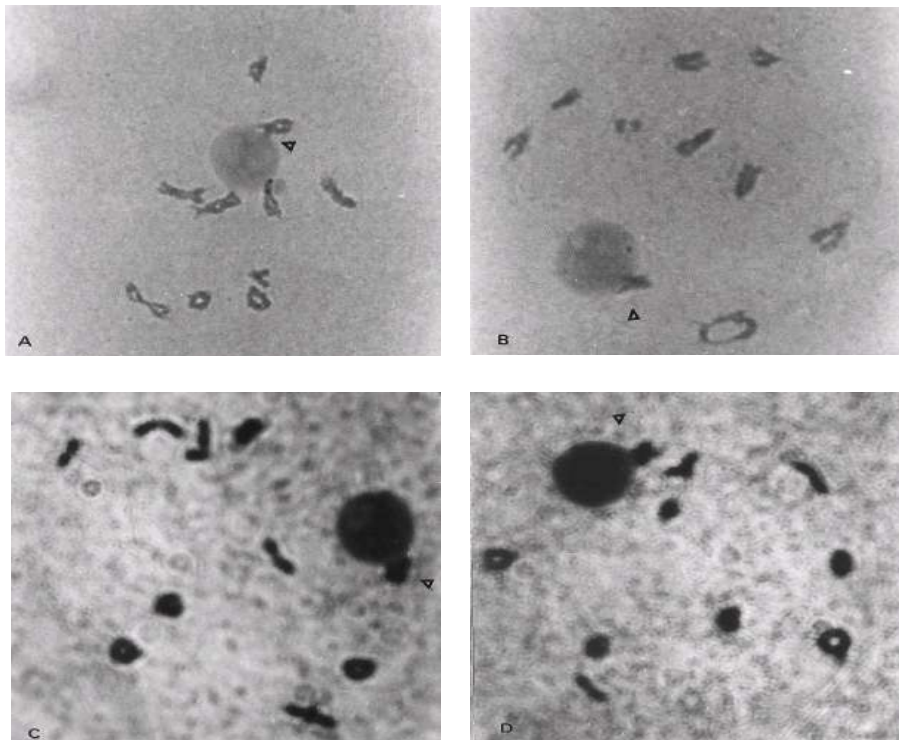


Fig. 4. Cromosomas en diacinesis, diez pares bivalentes. Las flechas señalan al cromosoma 6 unido al nucleolo. A) *Zea mays* ssp. *mays*; B) *Zea mays* ssp. *mexicana*; C y D) *Zea mays* ssp. *mays* X *Zea mays* ssp. *mexicana* (400X, campo claro A y B; contraste de fases C y D).

Cuadro 4. Frecuencias de distintas configuraciones cromosómicas en la F1.
Datos obtenidos de 200 células observadas.

	Maíz híbrido X teocintle	Simple H-311 chalqueño	Teocintle X maíz híbrido	Chalqueño simple H-311
	METAFASE	DIACINESIS	METAFASE	DIACINESIS
Univalentes	17	18	25	38
Trivalentes	0	4	18	19
Tetravalentes	31	31	35	33
Pentavalentes	0	0	1	1
Hexavalentes	4	1	4	1

La formación de trivalentes pudo haber sido menor que la de otras configuraciones, principalmente por la competencia de apareamiento entre bivalentes homólogos. Los resultados de este trabajo contrastan con los obtenidos por Kato (1984), este autor menciona que el apareo de los cromosomas del teocintle Chalco con los cromosomas del maíz es completo.

El apareamiento irregular entre teocintle chalqueño y el maíz híbrido simple H-311 utilizado, mostró falta de homología estructural entre algunos cromosomas debido, por un lado, a translocaciones que provocan que porciones de los cromosomas del maíz tengan sus contrapartes en cromosomas no homólogos del teocintle, y por otro lado tal vez a inversiones, las cuales previenen la formación de quiasmas entre algunos segmentos de cromosomas homólogos. Esto puede interpretarse como un mecanismo que tiene un importante papel evolutivo porque reduce el entrecruzamiento, sirviendo como un mecanismo de aislamiento parcial entre maíz híbrido simple H-311 y teocintle chalqueño.

Cariotipo

Se analizaron 10 células en metafase mitótica tanto para el maíz híbrido simple H-311, el teocintle chalqueño y el híbrido resultante (fig. 6). Como es usual, los cromosomas fueron numerados en orden decreciente de su longitud, de tal manera que el cromosoma más pequeño es el número 10 en el cariotipo de *Zea* (figs. 7A, 7B y 7C).

Los datos del análisis estadístico para los cromosomas del 1 al 10 y de la cromatina total aparecen en los cuadros 5 y 6 de ANOVA, respectivamente. Se observa en estos cuadros que el valor de F calculado y el valor establecido por la F de tablas nos indica que no hay diferencias significativas entre las medias de la longitud total de los cromosomas homólogos entre las tres variedades, excepto los cromosomas 2 y 9 que presentaron diferencias significativas, y en la comparación de las medias por la prueba de Tukey se observó una separación de los progenitores con el híbrido F1 (cuadro 7). Así, en el par cromosómico 2 hubo una diferencia significativa entre teocintle chalqueño y el híbrido F1 y en el par cromosómico 9 esta diferencia se dio entre el



Fig. 5. Célula en diacinesis de *Zea mays* ssp. *mays* (híbrido simple H-311) con nueve bivalentes y dos univalentes (400X).

maíz híbrido simple H-311 con híbrido F1. Por otra parte, también se determinó que no existen diferencias significativas entre las medias de la longitud total de sus genomios (cuadro 6, figs. 6 y 7).

En todas las plantas de las tres variedades analizadas se observó el número somático $2n = 2x = 20$. El tamaño de los cromosomas en los tres tipos de plantas resultó ser muy similar (cuadros 8, 9 y 10). La longitud total de los cromosomas fue de 2.26 a 4.76, 2.22 a 4.64 y de 2.11 a 4.59 μm para el maíz híbrido simple H-311, el teocintle chalqueño y la F1, respectivamente (fig. 7). Estos datos concuerdan con lo reportado por Vishnyakov y Kometiani (1988) y Chen (1969). Ellos reportan una longitud total de los cromosomas de maíz entre 2 y 5 μm .

La longitud total de cromatina por genomio se obtuvo mediante la suma de las longitudes de los 10 cromosomas en cada cariotipo, se observó una longitud muy similar para los tres cariotipos. La longitud máxima total se observó en el maíz híbrido

simple H-311 siendo de 33.51 μm y la mínima para el teocintle chalqueño con una longitud de 33.18 μm . La longitud de cromatina total para la F1 (maíz híbrido simple H-311 X teocintle chalqueño) fue intermedia con una longitud de 33.33 μm (cuadros 8, 9 y 10).

Estadísticamente la longitud total de los tres genomios, así como la longitud total de cada uno de los 10 cromosomas que integran el genomio de estas plantas no presentan diferencias significativas, es decir son muy similares; aunado a esto, a pesar de haberse presentado univalentes, trivalentes, tetravalentes y hexavalentes en un 59% de las células analizadas, se observaron 10 bivalentes aun cuando la frecuencia de quiasmas se observó reducida a sólo uno o dos quiasmas por bivalente. Esta homología entre los cromosomas del teocintle chalqueño y del maíz híbrido simple H-311 indica que estas dos variedades tienen una estrecha relación filogenética, y dado que el teocintle presenta características morfológicas más primitivas como son la desarticulación de sus semillas para

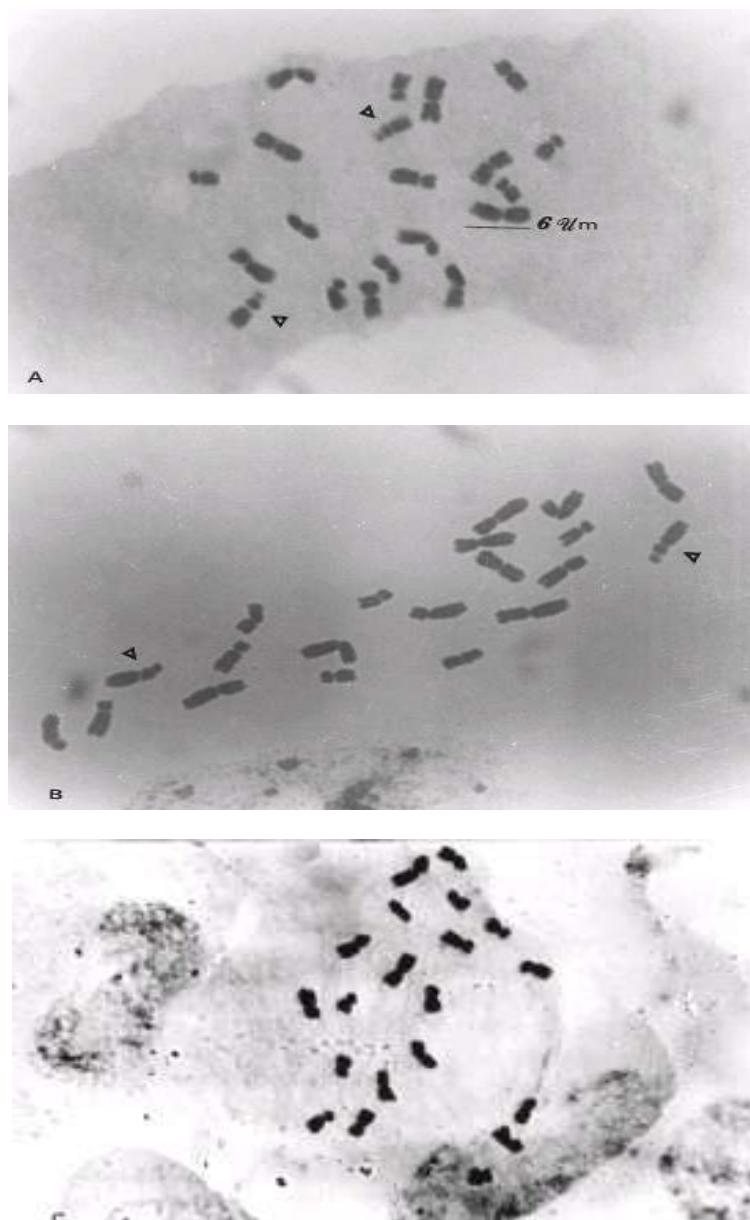


Fig. 6. Células radiculares en metafase, $2n = 20$. Las flechas señalan la posición del satélite en el par 6. A) *Zea mays* ssp. *mays*. *mays*; B) *Zea mays* ssp. *mexicana*; C) F1 (*Zea mays* ssp. *mays* X *Zea mays* ssp. *mexicana*); (1000X, campo claro A y B; contraste de fases C). Barra = 6 μ m

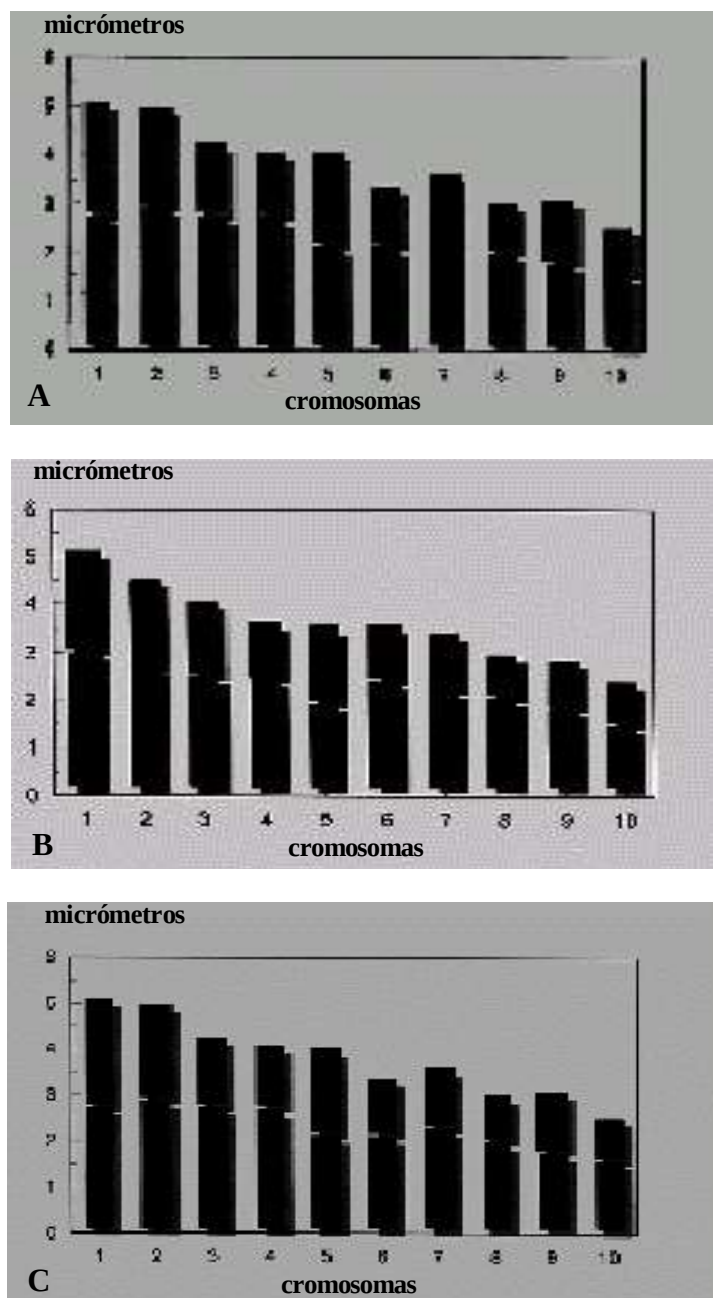


Fig. 7. Cariogramas. A) *Zea mays* ssp. *mays* (maíz híbrido simple H-311); B) *Zea mays* ssp. *mexicana* (teocintle chalqueño); C) F1 (*Zea mays* ssp. *mays* X *Zea mays* ssp. *mexicana*).

dispersarse por sí sola y la pequeña masa de sus semillas que les permite penetrar fácilmente en el suelo (Paterson *et al.*, 1995), y como lo mencionan diversos investigadores, éste es probablemente el progenitor del maíz.

La relación de brazos es muy importante para poder clasificar los cromosomas y obtener el cariotipo completo (Levan, *et al.*, 1964). Basándose en las mediciones de la longitud de los cromosomas se calculó la relación de brazos (BL/BC) (cuadros 8, 9 y 10). Estos valores concuerdan con los obtenidos en metafase mitótica por Chen (1969) y Aguiar-Perecin y Vosa (1985).

Comparando las posiciones del centrómero de cada uno de los cromosomas con sus respectivos homólogos en los tres tipos de variedades, se observó lo siguiente: solamente los cromosomas 1, 2, 6 y 8 presentan la misma nomenclatura para la posición del centrómero (m, m, sm y sm, respectivamente) (cuadro 11). En los otros pares cromosómicos, varía de metacéntrico a submetacéntrico. En los trabajos anteriormente citados obtuvieron una variación similar entre variedades de maíz. Aguiar-Perecin y Vosa (1985) en su estudio de bandeo específico para nudos cromosómicos obtuvieron diferencias en la relación de brazos del cromosoma 2 en el cual era heterocigótico para un nudo mediano en el brazo largo. El cromosoma con nudo mediano tuvo una relación de brazos de 1.67 ± 0.16 , mientras que el homólogo sin nudo tuvo una relación de 1.24 ± 0.13 , mencionando que estos datos demuestran que los nudos medianos y grandes afectan la longitud de los brazos de los cromosomas mitóticos, esto podría explicar las diferencias significativas encontradas en los pares cromosómicos 2 y 9, además, explica la variación en la relación

de brazos y por tanto la variación en la nomenclatura del centrómero para los cromosomas 3, 4, 5, 7, 9 y 10 del maíz híbrido simple H-311 con respecto a sus homólogos en el teocintle chalqueño y la F1 (maíz híbrido simple H-311 X teocintle chalqueño), no olvidando que en algunas ocasiones puede deberse al grado de compactación diferencial de los cromosomas como una respuesta diferente de las plantas a los reactivos utilizados en la técnica citogenética o bien por una pequeña diferencia en la etapa mitótica en que se encontraban las células meristemáticas radiculares en el momento del pretratamiento y fijación para su observación citológica.

Sin embargo, las diferencias en la relación de brazos entre los cromosomas mitóticos no son tan marcadas como cuando se compara la posición del centrómero de cromosomas en metafase mitótica con cromosomas en paquitene. Para estos últimos se dan posiciones subterminales para los cromosomas 6 y 8 del maíz y teocintle (Kato, 1984). Los pares cromosómicos 6 y 8 de las tres variedades aquí estudiadas, resultaron submetacéntricos, y con la presencia de satélites sólo en el par 6, estos resultados coinciden con Chen (1969), Aguiar-Perecin y Vosa (1985) (figs. 6 y 7).

Por lo anteriormente citado, y al menos refiriéndonos a las características visibles del genomio (número cromosómico, longitud cromosómica, posición del centrómero y constricciones secundarias) del maíz híbrido simple H-311 y del teocintle chalqueño, se observó que estas variedades no han mostrado cambios evolutivos significativos.

CONCLUSIONES

Los cromosomas mitóticos en los tres tipos de genomios presentaron una longitud que va de 2 a 5 μm , confirmando datos reportados por Chen (1969) y Aguiar-Perecin y Vosa (1985).

El cariotipo mitótico del maíz híbrido simple H-311, del teocintle chalqueño y de la F1 está constituido únicamente por cromosomas metacéntricos y submetacéntricos. Presentándose los satélites en el cromosoma 6.

En la fase de diacinesis el apareamiento en la F1 no fue regular, mostrando univalentes, trivalentes, tetravalentes, pentavalentes y hexavalentes.

Existen «probables» diferencias estructurales entre los cromosomas del maíz híbrido simple H-311 con sus respectivos homólogos en el teocintle chalqueño.

La frecuencia de quiasmas intercalares en la F1 disminuye más notoriamente en los distales, tanto en metafase I, meiótica y diacinesis.

La frecuencia de quiasmas totales se ve afectada directamente por el aumento o disminución de los quiasmas intercalares en ambas fases.

En los híbridos F1 (maíz híbrido simple H-311 X teocintle chalqueño y teocintle chalqueño X maíz híbrido simple H-311) no hubo diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia de quiasmas entre la diacinesis y metafase I, indicando que no hay terminalización.

El maíz híbrido simple H-311 y el teocintle chalqueño presentan una estrecha relación filogenética, dado que tienen el mismo número cromosómico, longitud y relación de brazos cromosómicos similares, además exhiben apareamiento e intercambio genético entre los cromosomas de ambas variedades cuando se encuentran en el híbrido F1 (maíz híbrido simple H-311 X teocintle chalqueño).

AGRADECIMIENTOS

Deseamos manifestar un sincero agradecimiento al doctor Diódoro Granados Sánchez por la revisión crítica del manuscrito, y a los M. en C. Agustín Vargas V., Antonio E. Cisneros C. y Edgar Urrutia en la revisión del trabajo estadístico.

LITERATURA CITADA

- Aguiar-Perecin, M.L. R. y C. G. Vosa, 1985. C-Banding in maize II. Identification of somatic chromosomes. *Heredity*, **54**: 37-42.
- Aguirre, G. C. D. y T. A. Y. Kato, 1979. Competencia entre el polen de maíz y de teocintle durante la fecundación. *Agrociencia*, **37**: 109-121.
- Coe, H. E., 2001. The origins of maize genetics. *Nat. Rev. Genet.*, **2**: 898-905.
- Chen, C.C., 1969. The somatic chromosomes of maize. *Can. J. Genet. Cyt.*, **11**: 752-754.

- Darlington, C.D., 1934. The origin and behavior of chiasmata, VII. *Zea mays*. *Z. Vererbungsl.*, **67**:96-114.
- Doebley, J.F. y H.H. Iltis, 1980. Taxonomy of *Zea* (gramínea). I. A. subgeneric classification with key to taxa. *Am. J. Bot.*, **67**: 982-993.
- Doebley, J.F. y A. Stec, 1991. Genetic analysis of the morphological differences between Maize and Teosinte. *Genetics*, **129**: 285-295.
- Doebley, J.F., 1993. Inheritance of the morphological differences between maize and teosinte: comparison of results for two F2 populations. *Genetics*, **134**: 559-570.
- Doebley, J.F., A. Stec y Ch. Gustus, 1995. *Teosinte branched1* and the origin of maize: evidence for epistasis and the evolution of dominance. *Genetics*, **141**: 333-346.
- Durán, D. A., A.E. C. Cisneros y A. V. Vargas, 2005. *Bioestadística*. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, México. 222 pp.
- García, V.A., 1988. Técnicas y procedimientos de citogenética vegetal. 3ª ed. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, México. 144 pp.
- González-Sánchez, M., E. González-González, F. Molina, A.M. Chiavarino, M. Rosato y M. J. Puerta, 2003. One gene determines maize B chromosome accumulation by preferential fertilisation; another gene(s) determines their meiotic loss. *Heredity*, **90**: 122-129.
- Gourmet, C. y A.L. Rayburn, 1996. Identification of RAPD markers associated with the presence of B chromosomes in maize. *Heredity*, **77**:240-244.
- Goodnight, J. Ch., 2000. Quantitative trait loci and gene interaction: the quantitative genetics of metapopulations. *Heredity*, **84**: 587-598.
- Jugenheimer, W. R., 1990. *Maíz: Variedades mejoradas Métodos de Cultivo y Producción de Semilla*. Trad. R Piña G, Cuarta reimpresión, Limusa, México. 841 pp.
- Kato, Y.T.A., 1984. Chromosome morphology and the origin of maize and its races. *Evol. Biol.*, **17**: 219-253.
- Levan, A., K. Fredga y A.A. Sandberg., 1964. «Nomenclature for centromeric position on chromosomes». *Hereditas*, **52**: 201-219.
- Nils-Otto, N., T. Säll y B. O. Bengtsson, 1993. Chiasma and recombination data in plants: are they compatible?. *Trends genet.* **9**: 334-338.
- Pääbo, S., 1999. Neolithic genetic engineering. *Nature*, **398**: 194-195.
- Paterson, A.H., Y. Lin, Z. Li, K. F. Scherz, F. Doebley, Sh. R.M. Pinson, S. Liu, J.W. Stansel, J.E. Iruine, 1995. Convergent domestication of cereak crops by independent mutations at corresponding genetic loci. *Science*, **269**: 1714-1718.

- Pressoir, G. y J. Berthaud, 2004. Patterns of population structure in maize landraces from the Central Valleys of Oaxaca in Mexico. *Heredity*, **92**: 88-94.
- Sokal, R. R. y F. J. Rohlf, 1995. *Biometry. The principles and practice of statistics in biological research*. 3a ed. W. H. Freeman and company. Nueva York. 887 pp.
- Stewart, C. N., M. D. Halfhill y S. I. Warwick, 2003. Genetic modifications: transgene introgression from genetically modified crops to their wild relatives. *Nat. Rev. Genet.*, **4**: 806-817.
- Ward, E.J., 1976. The effect of accessory chromatin on chiasma distribution in maize. *Can. J. Genet. Cyt.*, **18**: 479-484.
- Ward, E.J., 1979. Chiasma frequency and distribution in maize family segregation for K10 and trisomy 10. *Genetics*, **92**: 223-230.
- Vishnyakov, D.A. y D.G. Kometiani., 1988. Karyotypic characterization of some plants of southern regions of URSS. *Sov. Agric. Sci.*, **6**: 13-16.

*Diferencia significativa, $\alpha = 0.05$.

Cuadro 6. Análisis de varianza para la longitud total de cromatina de las variedades de *Zea mays* ssp. *mays* (híbrido simple H-311), *Zea mays* ssp. *mexicana* (teocintle chalqueño) y la F1 (*Zea mays* ssp. *mays* X *Zea mays* ssp. *mexicana*).

ANOVA					
Origen de la variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	Valor crítico para $F_{\alpha=0.05}$
Variedades	0.55	2	0.27	0.00449	3.35
Error	1662.70	27	61.58		
Total	1663.25	29			

Cuadro 7. Comparación de las medias de los pares cromosómicos 2 y 9 de las tres variedades.

Variedad	Cromosoma 2 — X	— X_{An+} — X_{Bn+}			Cromosoma 9 — X	— X_{An+} — X_{Bn+}		
		A	B	C		A	B	C
A. Maíz híbrido simple H-311	4.15		0.023	0.277	2.41		0.043	0.298*
B. Teocintle chalqueño	4.127			0.3*	2.453			0.255
C. F1	4.427				2.708			
DMSH		0.2897				0.264		

* Diferencias significativas, $\alpha=0.05$, prueba de Tukey, método de la diferencia significativa honesta (DMSH).

ico
0.05

Bn+
C
298*
1.255

Cuadro 8. Características del cariotipo mitótico promedio ($2n = 20$) de *Zea mays* ssp. *mays* (híbrido simple H-311). Los valores superiores son los límites de variación mínima y máxima, y los inferiores son el valor promedio de los datos obtenidos de 10 células.

Cuadro 9. Características del cariotipo mitótico promedio ($2n=20$) de *Zea mays* ssp. *mexicana* (teocintle chalqueño). Los valores superiores son los límites de variación mínima y máxima, y los inferiores son el valor promedio de los datos obtenidos de 10 células.

Cuadro 10. Características del cariotipo mitótico promedio ($2n = 20$) de la F1 (*Zea mays* ssp. *mays* X *Zea mays* ssp. *mexicana*). Los valores superiores son los límites de variación mínima y máxima, y los inferiores son el valor promedio de los datos obtenidos de 10 células.

Cuadro 11. Posición del centrómero y satélites en cromosomas de maíz híbrido H-311, teocintle chalqueño y la F1.

Cromosoma	Maíz híbrido simple h-311	Teocintle chalqueño	F1
1	m	m	m
2	m	m	m
3	m	m	sm
4	m	m	sm
5	m	m	M
6	sm*	sm*	sm*
7	sm	m	M
8	sm	sm	sm
9	sm	m	m
10	sm	m	m

*Presencia de satélites: m, metacéntrico; sm, submetacéntrico; M, metacéntrico (posición estrictamente media) (Levan *et al.*, 1964).