

30



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO 2 ej.

ENEP CAMPUS IZTACALA

ESTUDIO CITOGENICO DE *Zea mays ssp. Mays*,
Zea mays ssp. mexicana (T. CHALQUEÑO) Y EL
HIBRIDO F1

LUCINA IRENE FLORES CRESPO
JOSE LUIS OLIVARES CARRILLO

TESIS

Presentada como requisito parcial
para obtener el título de:

BIOLOGO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1998

260556



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

A la ENEP campus Iztacala por su apoyo en nuestra superación académica y por habernos permitido llevar a cabo la tesis de licenciatura en sus instalaciones.

Al M.C. Saúl Flores Maya por su asesoramiento y dedicación en el desarrollo de este trabajo, por brindarnos una oportunidad.

Al M.C. Angel Durán Durán por su valiosa dirección en el análisis estadístico en el presente estudio.

Al Dr. Takeo Angel Kato Y. con nuestro más sincero agradecimiento por su dedicación y paciencia a la enseñanza en citogenética.

Al Biólogo José Luis Gama Flores por su amistad y sincero apoyo durante nuestra estancia en este plantel.

A nuestros compañeros de laboratorio, por su amistad.

Al Biólogo Manuel Mandujano Piña, Biólogo Gerardo Ortiz Montiel, M.C. Martha Salcedo Alvarez y a la Bióloga Irma Elena Dueñas García por sus sugerencias e interés en la revisión de este trabajo.

DEDICATORIA

**A nuestros padres: por su apoyo
incondicional en todo momento.**

**A nuestros hermanos: por su apoyo
y comprensión.**

**A nuestros hijos: Carlos y Carolina
por su cariño.**

**A nuestros maestros, compañeros
y amigos.**

INDICE

	Pág.
LISTA DE CUADROS	iii
LISTA DE TABLAS	iv
LISTA DE FIGURAS	vi
Resumen	1
I. Introducción	2
II. Revisión de literatura	5
2.1. Taxonomía de <i>Zea</i>	5
2.2. Distribución del teocintle <i>Z. mays ssp. mexicana</i> .	6
2.3. Hibridización maiz x teocintle	7
2.4. Morfología cromosómica	11
2.5. Cromosoma B	13
2.6. Cromosoma 10 anormal	14
III: Materiales y métodos	15
3.1. Material biológico	15
3.2. Hibridización	16
3.3. Obtención del material citológico	17
3.3.1. Preparaciones citológicas	17
3.3.1.1 Preparaciones mitóticas	17
3.3.1.2. Preparaciones meióticas	18
IV. Análisis citológico	19
V. Análisis estadístico	20
VI. Resultados y discusión	21
6.1. Frecuencia de quiasmas	21

6.2. Apareamiento cromosómico	25
6.3. Cariotipo	27
VII. Conclusiones	31
VIII. Bibliografía	33

LISTA DE CUADROS

CUADRO

- 1 A. Número promedio de quiasmas por célula en metafase meiótica. B. Número promedio de quiasmas por célula en diacinesis.
- 2 Frecuencia de distintas configuraciones cromosómicas en la F1.
- 3 Características del cariotipo mitótico promedio ($n = X = 10$) de *Zea mays ssp. mays*.
- 4 Características del cariotipo mitótico promedio ($n = X = 10$) de *Zea mays ssp. mexicana*.
- 5 Características del cariotipo mitótico promedio ($n = X = 10$) de la F1 (maíz - teocintle Chalqueño).
- 6 Posición del centrómero y satélites en cromosomas de maíz, teocintle y la F1.

LISTA DE TABLAS

TABLA

- 1 Marcadores genéticos utilizados en trabajos de recombinación entre maíz y teocintle .
- 2 ANOVA: análisis de varianza para el número de quiasmas en diferente posición en plantas de maíz, teocintle y la F1.
- 3 ANOVA: análisis estadístico para la longitud total de los cromosomas de *Zea mays ssp. mays*, *Zea mays ssp. mexicana* y la F1.
- 4 ANOVA: análisis estadístico para la longitud total de cromatina de *Zea mays ssp. mays*, *Zea mays ssp. mexicana* y la F1.

LISTA DE FIGURAS

Figura

- 1 A) Semilla de maíz (Híbrido simple H-311), B) Semilla de teocintle Chalqueño (*Zea mays ssp. mexicana*), C) Semillas de teocintle Chalqueño en el lugar de recolección.
- 2 Diagrama de flujo. Trabajo de campo.
- 3 Plantas de maíz y teocintle Chalqueño crecidas en el invernadero de la ENEP campus Iztacala.
- 4 A) Semillas híbridas (teocintle Chalqueño x maíz) de plantas crecidas en el invernadero de la ENEP campus Iztacala.
B) Mazorcas híbridas (maíz x teocintle Chalqueño) de plantas crecidas en el invernadero de la ENEP campus Iztacala.
- 5 Diagrama de flujo. Hibridización.
- 6 Diagrama de flujo. Trabajo de laboratorio.
- 7 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) F1 (maíz x teocintle Chalqueño).
- 8 Células meióticas de la F1 en diacinesis con 7 bivalentes y un hexavalente.
- 9 Cromosomas meióticos (Diacinesis). Diez pares, bivalentes de cromosomas homólogos. Cromosoma 6 unido al nucleólo. A) *Zea mays ssp. mays*, B) *Zea mays ssp. mexicana*, C) F1 (maíz x teocintle Chalqueño), algunos bivalentes unidos solamente por un extremo.
- 10 Célula en diacinesis de maíz (Híbrido simple H-311) con nueve bivalentes y dos univalentes.
- 11 Cromosomas en metafase mitótica en células del ápice radical, $2n = 20$, satélites en cromosoma 6. A) *Zea mays ssp. mays*, B) *Zea mays ssp. mexicana*, C) F1 (maíz x teocintle Chalqueño).
- 12 A. Idiograma de *Zea mays ssp. mays*. B. Idiograma de *Zea mays ssp. mexicana*. C Idiograma de la F1 (maíz x teocintle Chalqueño).

RESUMEN

Se hizo conteo de quiasmas en metafase meiótica en células de plantas de maíz (*Zea mays ssp. mays*), teocintle Chalqueño (*Zea mays ssp. mexicana*) y la F1 resultante.

La frecuencia de quiasmas en la F1 fue menor que en sus progenitores. En maíz el promedio de quiasmas totales por célula fue de 21.88, en teocintle 21.31 y para la F1 16.63.

En las plantas híbridas el apareamiento entre los cromosomas homólogos no fue regular, se presentaron univalentes, trivalentes, tetravalentes, pentavalentes y hexavalentes.

Se analizó el cariotipo del maíz, del teocintle y la F1. Los tres tipos de planta presentaron un número cromosómico diploide de $2n = 20$. La longitud total promedio por genomio fue de 33.51 micrómetros para el maíz, 33.18 micrómetros para el teocintle Chalqueño y 33.33 micrómetros para la F1 (*Zea mays ssp. mays-Zea mays ssp mexicana*).

De cada cromosoma se determinó la longitud total y la relación de brazos (BL/BC). La longitud total de los cromosomas de los tres genomios fue muy similar, presentaron una longitud entre 2 y 5 micrómetros. Los tres cariotipos están formados por cromosomas meta y submetacéntricos.

El maíz y el teocintle Chalqueño presentan 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.

I. INTRODUCCION

El maíz (*Zea mays ssp. mays*) está estrechamente relacionado con la planta silvestre llamada teocintle, de la cual se conocen: *Zea perennis*, Teocintle perene tetraploide; *Zea diploperennis*, teocintle perene anual; *Zea mays ssp. parviglumis* y *Zea mays ssp. mexicana*, son teocintles anuales. La especie tetraploide tiene 40 cromosomas somáticos, el teocintle diploperene 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 (Doebly e Iltis, 1980; Iltis y Doebly, 1980).

Los teocintles pueden ser cruzados con el maíz y producir híbridos parcialmente fértiles como sucede con la forma perene, o híbridos fértiles al cruzarse el maíz con las formas anuales. En estudios de recombinación se ha observado que entre los cromosomas de 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 la hay, mientras en los cromosomas de maíz y teocintle Chalqueño el entrecruzamiento en la misma región es similar a la que se presenta entre los cromosomas de maíz (Beadle, 1932, citado por Kato, 1976).

Los cromosomas de maíz y teocintle han sido estudiados en la fase de paquiteno (McClintock, 1932; Longley, 1937; Kato, 1976, 1981), 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, sin

embargo, hay poca información sobre la morfología de los cromosomas de maíz, teocintle y el híbrido resultante en la metafase mitótica.

En cuanto al apareamiento de los cromosomas se sabe que en la fase de diacinesis de la meiosis en híbridos F1 maíz-teocintle Florida falta apareamiento entre dos cromosomas encontrándose como univalentes, o unidos por un solo extremo como en los híbridos maíz teocintle Durango, indicando quizá una reducción de quiasmas (Arnason, 1936, citado por Kato, 1976) . Sin embargo, hay escasa información sobre apareamiento en diacinesis y frecuencia de quiasmas en la metafase meiótica, especialmente en híbridos F1 maíz teocintle Chalqueño.

El estudio de las semejanzas cromosómicas entre maíz y teocintle es importante porque puede dar información acerca de sus relaciones filogenéticas y probablemente de mecanismos de evolución cromosómica ocurridos ya que están estrechamente relacionados (Kato, 1976). Aunado a ésto, en los últimos años se ha dado auge a los estudios moleculares, los cuales nos dan información muy específica por medio de marcadores en determinados cromosomas, sin embargo ésto no debe restar importancia a los estudios citogenéticos los cuales son un primer paso y nos permiten además observar y analizar el comportamiento conjunto de todo el genomio.

Con el propósito y dada la importancia de hacer una aportación a dicho conocimiento se llevó a cabo el presente trabajo, teniendo como objetivos:

- 1 Obtener las características cariotípicas mitóticas del complemento cromosómico del maíz, teocintle Chalqueño y el híbrido F1 maíz teocintle Chalqueño.

2 Determinar si el apareamiento cromosómico en diacinesis en híbridos F1 maíz-teocintle Chalqueño es similar al de sus progenitores.

3 Determinar si hay variación en la frecuencia de quiasmas en el híbrido F1 maíz-teocintle Chalqueño con respecto a sus progenitores.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 TAXONOMIA DE ZEA

El maíz es un miembro de la Familia Gramineae y todos sus tipos están clasificados en la subespecie única , *Zea mays ssp. mays*. Se encuentra relacionado estrechamente con las especies silvestres conocidas con el nombre común teocintle (Doebley e Iltis, 1980; Iltis y Doebley, 1980).

Wilkes (1967, 1977) observó que el maíz y el teocintle son muy similares en apariencia, con flores estaminadas casi idénticas sostenidas en espigas y flores pistiladas encerradas en un sistema de brácteas que nacen en una posición lateral en el tallo, el carácter más confiable que los diferencia es el fruto pistilado, una espiga de grano dística en el teocintle y una estructura polística en el maíz. Además el teocintle se distingue del maíz en que las semillas son dispersadas como segmentos de raquis individuales como resultado de la desarticulación de la espiga. La habilidad para dispersar la semilla, un carácter ausente en el maíz permite al teocintle ser una planta silvestre.

Originalmente el teocintle estaba asignado al género *Euchalena* Schrad, separado de *Zea* L; pero Reeves y Mangelsdorf (1942) hicieron una revisión a *Euchalena* y *Zea*, sugiriendo que el teocintle se colocara en el género *Zea* en tres especies *Zea perennis*, *Zea diploperennis* y *Zea mexicana*. Actualmente el género *Zea* se divide en dos grupos: la sección *Luxuriantes* y la sección *Zea*. La primer sección está integrada por las especies *Zea luxuriantes* (Duriev y

Ascherson) Bird: teocintle anual del sureste de Guatemala y Honduras; *Zea perennis* (Hitchcock) Reeves y Mangelsdorf: teocintle perenne tetraploide y *Zea diploperennis* Iltis, Doebley y Guzmán: teocintle perenne diploide. La sección *Zea* incluye a la especie *Zea mays* L. en la cual se encuentra la subespecie *Z. mays ssp. mays*: maíz cultivado; *Z. mays ssp. mexicana* (Schrader) Iltis: teocintle anual de México y *Z. mays ssp. parviglumis* Iltis y Doebley: Teocintle del noreste de Guatemala (Doebley e Iltis, 1980; Iltis y Doebley, 1980).

Del teocintle anual mexicano se reconocen las variedades Mesa Central, Novogame, Durango y Chalco y del teocintle *Z. mays ssp. parviglumis* las variedades Balsas y Huehuetenango. Esta última variedad se ha cultivado en el sur de Estados Unidos, se le conoce como teocintle Florida.

2.2. DISTRIBUCION DEL TEOCINTLE *Z. mays ssp. mexicana*

En el valle Tarahumara, localizado en la Sierra Madre Occidental de Chihuahua aproximadamente a 16 kilómetros del noreste de Guadalupe y Calvo, se encuentran poblaciones de teocintle de la variedad Nobogame, están ubicadas a no más de 50 kilómetros cuadrados entre elevaciones de 1750-1920 msnm, es muy frecuente encontrar teocintle a lo largo del margen de los campos de cultivo de maíz, es conocido en el lugar como "maíz silvestre" (Wilkes, 1967, 1977).

En el área del Valle de Guadiana, con una altitud media de 1890 msnm, en los alrededores de la ciudad de Durango el teocintle se encuentra en forma abundante a los lados de arroyos y

canales de riego de los campos de cultivo de maíz, sorgo y chile. Se ha localizado en tres sitios sobre la carretera Durango-Zacatecas conocidos como "Puente Dalilas", "Puente Gavilanes" y en las inmediaciones de Francisco Villa (Hacienda Alcalde) (Sánchez y Ordaz, 1987).

En la Mesa Central de México se establecen en varios sitios pequeñas poblaciones aisladas. El teocintle está restringido a los campos de cultivo en Manuel Doblado, Michoacán, se encuentra únicamente a lo largo de las zonas rocosas que limitan los campos. En esta región el teocintle es conocido como "maíz coyote" (Wilkes, 1967, 1977).

Las poblaciones de teocintle en el Valle de México se extienden desde Amecameca (2250-2500 msnm) a los Reyes (2180 msnm) y es conocido en la literatura como teocintle Chalco. En estos sitios aparece exclusivamente como plaga en los campos de cultivo de maíz. Localmente el teocintle es conocido como "acece".

2.3. HIBRIDIZACION MAIZ X TEOCINTLE

El teocintle no está uniformemente distribuido, existe en poblaciones aisladas geográficamente. Algunas poblaciones como las del Valle de México, crecen en los campos donde se cultiva el maíz (Wilkes, 1967). El teocintle y el maíz están aislados estacionalmente, el teocintle florea dos semanas después que el maíz, sin embargo el aislamiento no es completo porque las primeras plantas del teocintle que florecen se sobrelapan con las últimas de maíz, originando de esta manera hibridación natural (Wilkes, 1967, 1977).

Los métodos de hibridación artificial han permitido estudiar la semejanza cromosómica, así como la fertilidad de los híbridos del maíz con los diferentes teocintles. La cruce de teocintle perenne tetraploide x maíz produce híbridos triploides semiestériles, observándose durante la meiosis trivalentes, bivalentes y univalentes (Longley, 1924; Emerson, 1929, Wilkes, 1977).

En estudios de fertilidad, los híbridos F1 teocintle anual Florida x maíz han mostrado un alto grado de esterilidad de polen de un 50% (Mangelsdorf y Reeves, 1939; Roger, 1950, Wilkes, 1967). Beadle en 1932 observó en diacinesis de híbridos F1 de una cruce similar dos cromosomas no apareados y en ocasiones cuatro univalentes, estos híbridos mostraron un grado de esterilidad del polen de un 32%. De la cruce maíz con teocintle anual Durango y Chalqueño se obtienen híbridos F1 con una meiosis regular y una fertilidad normal (Beadle, *op cit*, Mangelsdorf y Reeves, *op cit*). Rogers (*op cit*) obtuvo híbridos maíz x teocintle anual Chalqueño y maíz x teocintle Durango con una fertilidad de polen de 95.8% y 99% respectivamente. Estos resultados indican que los cromosomas de la raza Chalco y Durango son, si no iguales, similares a los del maíz .

En la fase de diacinesis y metafase en meiosis, Arnason (1936, citado por Kato, 1976) detectó entre los cromosomas del híbrido resultante de la cruce de maíz por teocintle Florida la falta de apareamiento entre dos cromosomas, éstos solo se unían por un extremo o aparecían como dos univalentes en aproximadamente el 50% de las células examinadas, sus resultados coincidieron con los de Beadle (1932, citado por Kato, 1976). Aunado a esto, observó un par de cromosomas de longitud diferente en un 20%, mencionó que los miembros de este par desigual puede ser el

cromosoma 5 o probablemente el 8, 9 o 10. Mientras que, en híbridos de maíz-teocintle Durango únicamente observó bivalentes unidos por un solo extremo en un 25 % de las células examinadas, quizá indicando una reducción en la frecuencia de quiasmas de estos pares. También obtuvo algunos valores sobre recombinación entre los cromosomas homólogos 1, 2, 3 y 7. Mas no pudo determinar la frecuencia de recombinación por tener pocos datos, sin embargo esos datos sugirieron que los valores no eran muy diferentes a los obtenidos para maíz.

Beadle (*op cit*) en estudios de recombinación entre los marcadores c-sh-wx (tabla 1) del brazo corto del cromosoma 9 encontró que en los híbridos de teocintle Durango-maíz no se presenta la recombinación y si la hay, los porcentajes de recombinación son muy bajos. En adición en híbridos de la misma cruce también se obtuvo datos de recombinación entre los marcadores R-g del cromosoma 10, su-tu del cromosoma 4 y B-lg del cromosoma 2, entre otros. La cantidad total de entrecruzamiento fue de 15 %, 33 % y 31 % respectivamente en las plantas híbridas, mientras que en las mismas regiones en cromosomas homólogos de maíz los valores obtenidos fueron de 16 %, 29 % y 35 % respectivamente. Con estos resultados puede apreciarse que entre los cromosomas 2, 4 y 10 de teocintle Durango y sus respectivos homólogos en maíz, en las regiones estudiadas la recombinación se presenta en aproximadamente la misma proporción. En híbridos maíz-teocintle Florida (Beadle, *op cit*) se probaron los marcadores c-sh-wx del cromosoma 9, R-G del cromosoma 10 y Pr-Bt del cromosoma 5. Entre los marcadores del cromosoma 9, al igual que en el híbrido maíz-teocintle Durango, la recombinación fue muy baja o no se presentó. En cambio entre los marcadores de los cromosomas 10 y 5 de las plantas híbridas parece no haber diferencias significativas con los valores observados en maíz. En la región R-g del híbrido y del maíz se obtuvo un 17 % y 16 % de entrecruzamiento respectivamente, y entre los marcadores Pr-

Tabla 1 Marcadores genéticos utilizados en trabajos de recombinación entre maíz y teocintle.

Marcador	Fenotipo
C	Color de la aleurona
sh	Endospermo reducido
wx	Endospermo ceroso
R	Color de la aleurona
g	Planta con tonos dorados
su	Endospermo dulce
tu	Mazorca tunicada
B	Intensidad de color en la planta
lg	Hojas sin ligulas
Pr	Color rojo de la aleurona
Bt	Endospermo quebradizo

El porcentaje fue de 20% para las plantas híbridas y de 18 % para el maíz. Al retrocruzar los híbridos de maíz-teocintle Chalqueño con maíz, entre los marcadores c-sh y sh-wx de los cromosomas homólogos hubo un porcentaje de recombinación de 4.3 % y 27.9 % respectivamente. En contraste con el comportamiento de la misma región del mismo cromosoma en los híbridos de maíz-teocintle Durango y maíz-teocintle Florida, la frecuencia de recombinación fue de aproximadamente la misma que la observada en los cromosomas homólogos del maíz. Adicionalmente, en híbridos maíz-teocintle Chalqueño se obtuvieron datos de otros cromosomas. Los marcadores fueron R-g del cromosoma 10, su-tu del cromosoma 4 y B-lg del cromosoma 2. Los valores obtenidos tanto para el híbrido como para el maíz fueron 17% y 16%, 37% y 29% y 26% y 35% respectivamente. Como puede observarse los valores de recombinación tanto en los híbridos teocintle Durango-maíz, teocintle Florida-maíz y teocintle Chalqueño-maíz, los valores de entrecruzamiento entre los marcadores mencionados resultaron muy similares a los obtenidos en plantas de maíz.

Los datos obtenidos por Beadle (*op cit*) muestran que la recombinación tiene lugar en aproximadamente la misma frecuencia en ciertas regiones de varios cromosomas de los teocintles anuales mencionados con sus respectivos homólogos en *Zea mays ssp. mays*.

2.4. MORFOLOGIA CROMOSOMICA

Después de numerosos trabajos se determinó que el número cromosómico somático en maíz y teocintle anual es de $2n=20$. Sin embargo en algunas poblaciones se pueden encontrar cromosomas adicionales que se suman al genomio normal (Randolph, 1928, Kato, 1976, 1984, MacClintock *et al*, 1981). McClintok (1933) demostró que estos cromosomas no son del complemento normal y que son completamente diferentes en morfología y comportamiento.

Las características de los cromosomas de teocintle y maíz fueron descritas primeramente por McClintok (1932, citada por Kato, 1976) quien observó que el estado de paquiteno en meiosis es adecuado para estudiar los cromosomas en maíz porque su elongación revela muchas características de cada cromosoma. Ella publicó el primer ideograma completo de los cromosomas paquiténicos del maíz, determinando su longitud relativa, la ubicación precisa del centrómero, la relación de brazos, la posición de ciertos cromómeros conspicuos y de los nudos. Los nudos cromosómicos son estructuras de heterocromatina variables en tamaño pero localizados en ciertas posiciones fijas sobre los cromosomas.

Posteriormente, Longley (1937, citado por Kato 1976) al estudiar las características de los cromosomas paquiténicos de los teocintles de Guatemala y México, elaboró un diagrama de los cromosomas de cada especie mostrando que hay similitud entre los cromosomas entre diferentes variedades de maíz, así como entre el maíz y teocintles. Encontró que en esta fase un mismo cromosoma en diferentes plantas presenta variación en su longitud, causada

probablemente por una contracción diferencial, sin embargo al hacer el promedio de longitud y relación de brazos de los cromosomas los valores son relativamente constantes. Una comparación más precisa de la longitud cromosómica puede hacerse cuando los homólogos de ambas plantas se encuentran en híbridos F1.

Según se observa en la fase de paquiteno, el maíz y el teocintle comparten composiciones cromosómicas muy similares. El teocintle de México tiene las mismas clases de nudos que están en el maíz y aparecen en las mismas posiciones de cada uno de los diez cromosomas. Sin embargo, el teocintle mexicano tiene nudos que aún no han sido observados en el maíz (Kato, 1976, 1981; MacClintock *et al*, 1981).

Uno de los cromosomas del maíz y del teocintle siempre está unido al nucleolo, y por lo tanto es fácilmente identificado. Este es el cromosoma 6 el cual está unido al organizador nucleolar por medio de su brazo corto (Kato, 1984; Aguiar, 1985). Kato (1976) en un estudio comparativo de los cromosomas en paquiteno estableció que la longitud y relación de brazos de cada cromosoma en maíz es igual a su homólogo correspondiente en teocintle. La relación promedio de brazos (L/C) de los cromosomas paquiténicos en orden del uno al diez es 1.32, 1.35, 2.03, 1.75, 1.06, 3.61, 2.85, 3.29, 2.07 y 2.54 respectivamente.

2.5. CROMOSOMA B

En algunas poblaciones de maíz y teocintle anual mexicano se pueden encontrar cromosomas adicionales que se suman al genomio normal (Kato, 1976, 1984, McClintock *et al*, 1981). Estos cromosomas adicionales o supernumerarios han sido denominados cromosomas B para diferenciarlos del complemento normal (Carlson, 1986; Kato, 1976, 1984).

Los cromosomas B son distinguidos de los casos de aneuploidía por su falta de homología con los cromosomas A, pues nunca se aparean con ellos durante la meiosis (Longley, 1927; Randolph, *op cit*; McClintock, 1933, Kato, 1984). Estos cromosomas exhiben una variación numérica en diferentes células, tejidos, individuos y poblaciones (Randolph, *op cit*; Carlson, 1986).

La descripción morfológica de los cromosomas B en paquíteno del maíz fue dada por McClintock (*op cit*). Los cromosomas B son aproximadamente la mitad de longitud del cromosoma 10 y comprende varias partes morfológicas distintivas: 1) centrómero terminal, 2) porción heterocromática, 3) región eucromática que forma aproximadamente un tercio de la longitud total, 4) un gran segmento heterocromático y 5) un segmento distal heterocromático con cuatro partes distintas.

Posteriormente Kato (1976, 1984) y McClintock *et al.*(1981) mencionan que este tipo de cromosoma puede encontrarse únicamente en maíz y teocintle anual mexicano. La morfología en paquíteno del cromosoma B en ambas especies es muy similar o idéntica.

2.6. CROMOSOMA 10 ANORMAL

Tanto en el maíz como en el teocintle anual mexicano en la fase de paquiteno se puede apreciar las características distintivas de una variante del cromosoma 10, al que se ha llamado 10 anormal (Longley, 1937, citado por Kato, 1976). Este cromosoma 10 anormal se distingue por un segmento extra unido al brazo largo del cromosoma 10 normal de longitud similar a la del brazo corto, esta pieza adicional presenta tres cromómeros muy distintivos y en la región subterminal un nudo grande. Las demás partes del cromosoma son iguales a las regiones del cromosoma 10 normal (Roades, 1942, 1952; Kato, 1976).

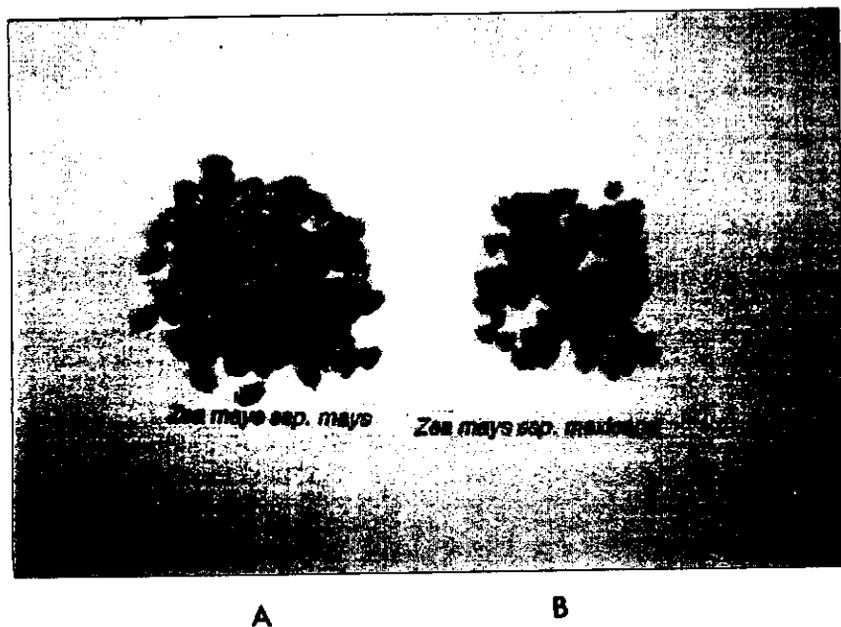
El cromosoma 10 anormal puede estar presente en forma homocigótica o heterocigótica y, en este último caso forma un bivalente heteromórfico debido a que el segmento extra carece de la región homóloga en el cromosoma 10 normal (Kato, *op cit.*).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. MATERIAL BIOLÓGICO

Para este estudio se utilizaron semillas de maíz (híbrido simple H-311) y teocintle Chalqueño (*Z. mays ssp. mexicana*) (Wilkes, 1967, Sánchez y Ordaz, 1987). Las semillas de maíz fueron adquiridas en la empresa Berentsen (C. de Abastos F-42-A, D.F) y las de teocintle (figura 1) fueron recolectadas a orillas de un campo de cultivo de maíz sobre la carretera Chalco-Amecameca frente al poblado de Chalco, Estado de México. Parte de las semillas (figura 2) fueron sembradas en el invernadero de la ENEP campus Iztacala en el ciclo agrícola primavera verano de 1994. De estas plantas (figura 3) se recolectaron y almacenaron bajo refrigeración algunas espigas, de las cuales 20 espigas de maíz y 20 de teocintle fueron analizadas como se describe más adelante.

Por otra parte, se hicieron cruza recíprocas. De las semillas híbridas obtenidas (figura 4), una parte fue nuevamente sembrada en el ciclo agrícola primavera verano de 1995 en el mismo campo de cultivo y posteriormente de las plantas híbridas se recolectaron y almacenaron sus espigas para su estudio.



A

B

Figura 1. A) semilla de maíz (híbrido simple H-311), B) semilla de Teocintle Chalqueño (*Zea mays ssp. mexicana*), C) semillas de Teocintle Chalqueño en el lugar de recolección.



C

Figura 2. Diagrama de flujo Trabajo de campo

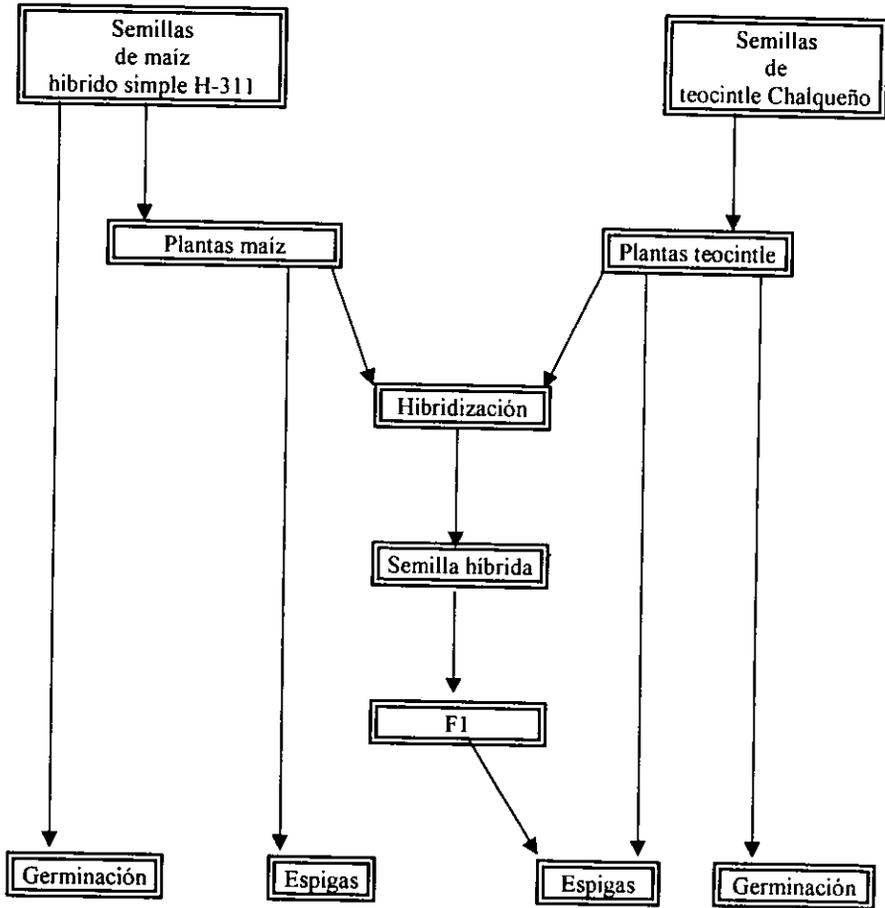


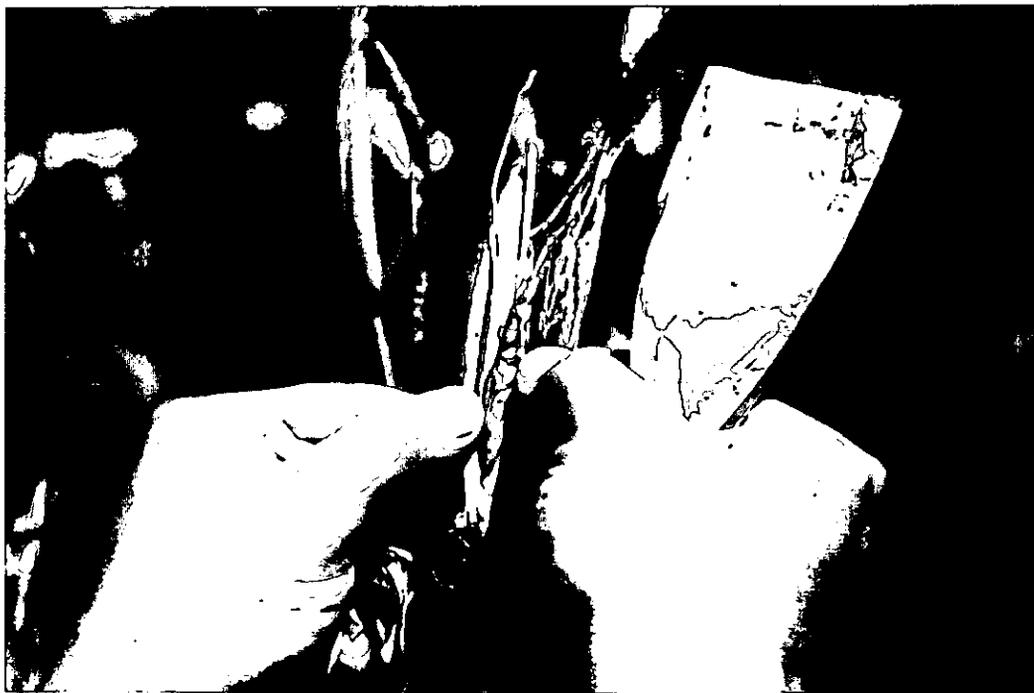


Figura 3. Plantas de maíz (izquierda) y teocintle Chalqueño (derecha) crecidas en el invernadero de la ENEP campus Iztacala.

Figura 4. B) Mazorcas híbridas (maíz x teocintle Chalqueño) de plantas crecidas en el invernadero de la ENEP campus Iztacala.



Figura 4. A) Semillas híbridas (teocinte Chalqueño x maíz) de plantas crecidas en el invernadero de la ENEP campus Iztacala.

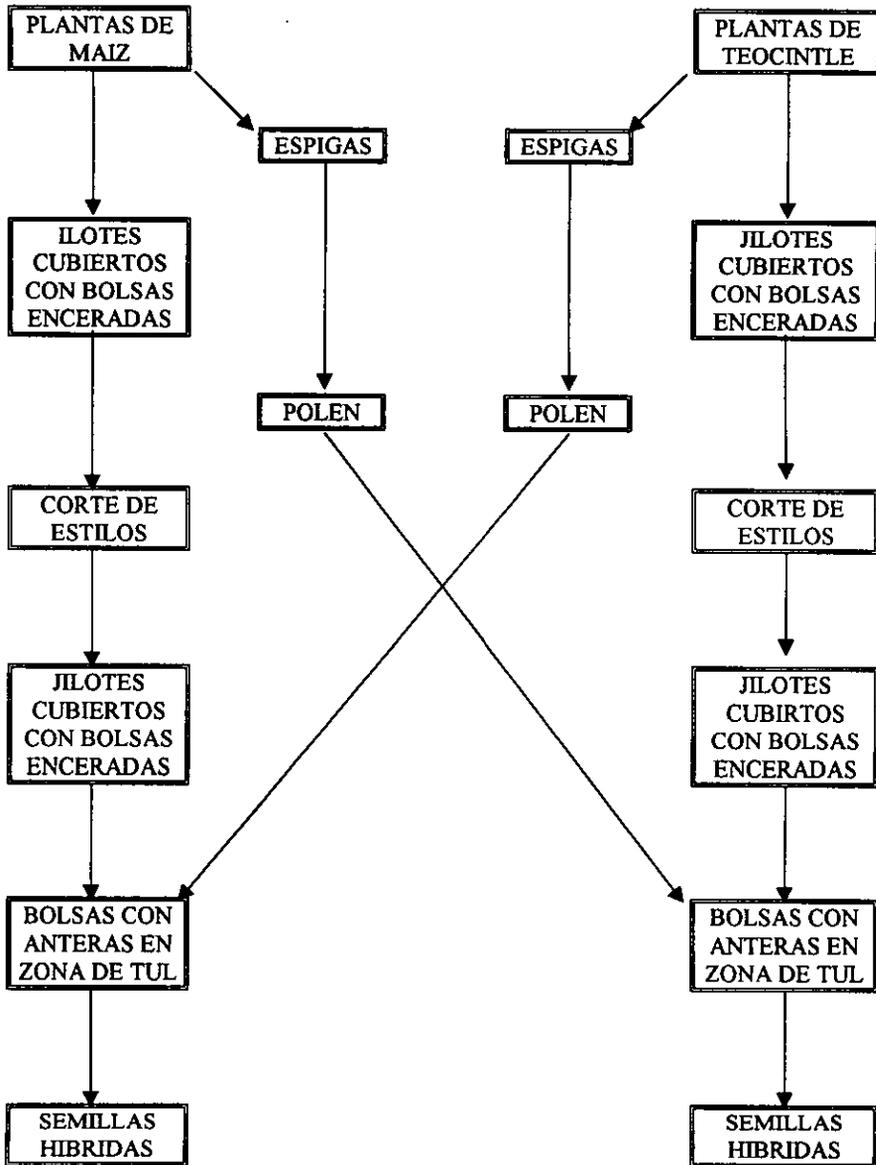


3.2. HIBRIDIZACION

Las inflorescencias femeninas de las plantas de maíz fueron polinizadas con granos de polen de las plantas de teocintle y viceversa para obtener las cruzas recíprocas (fig.5). Ambas polinizaciones se llevaron a cabo con el mismo 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 (Aguirre y Kato, 1979). Después los jilotes fueron cubiertos nuevamente hasta 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 preparadas previamente 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. Esta fue fijada a la base de la mazorca y doblada y engrapada en la parte superior para prevenir una posible contaminación con polen no deseado dispersado por el viento o diversos insectos (Aguirre y Kato, *op cit.*).

Figura 5 .Diagrama de flujo
Hibridización



3.3. OBTENCION DEL MATERIAL CITOLOGICO

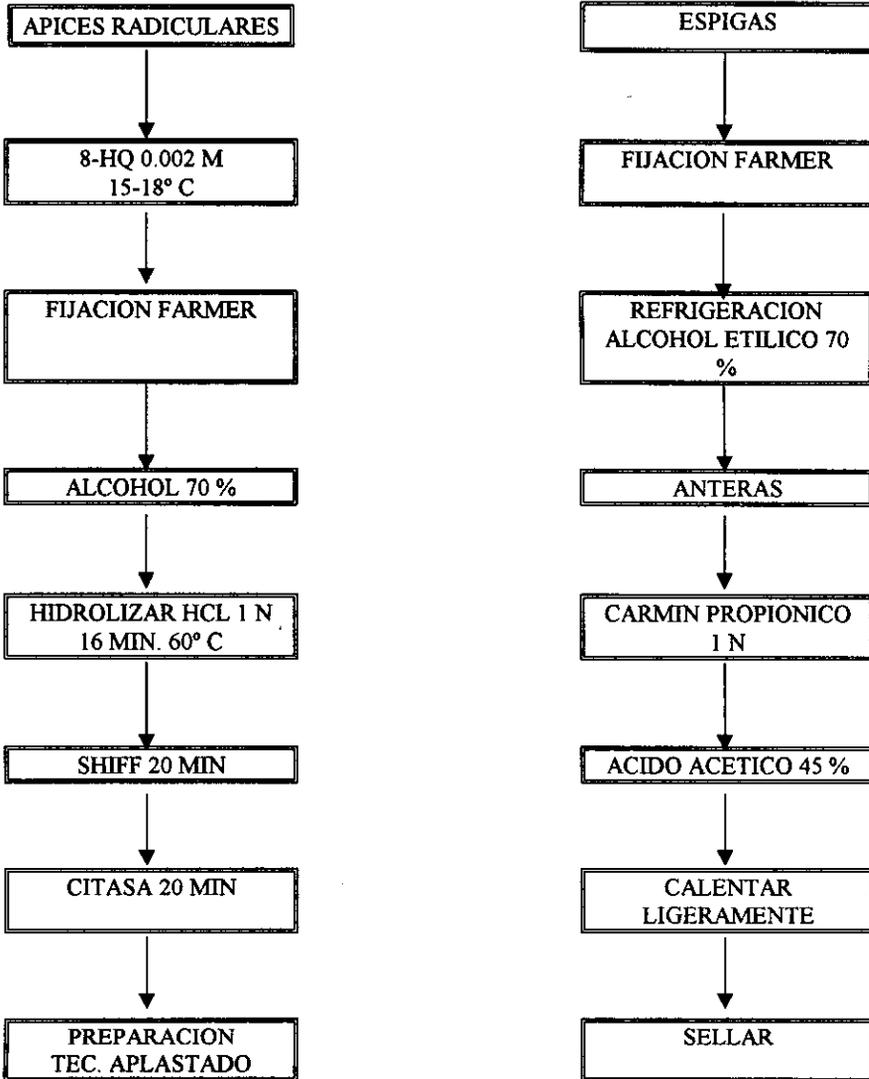
Para la observación de los cromosomas mitóticos (figura 6), las semillas de maíz, teocintle y los híbridos fueron germinadas en cajas Petri en una estufa a 30° C y después de tres días se tomó el ápice radicular de cada una de ellas. Estos ápices fueron tratados con una solución acuosa de 8-hidroxiquinoleína a una concentración de 0.002 M durante 9 horas a temperatura de 15 a 18° C para obtener células en metafase con cromosomas dispersos; estos ápices radiculares se fijaron con Farmer (3 partes de alcohol etílico 96% y una parte de ácido acético glacial). Después el fijador fue cambiado por alcohol etílico al 70% para conservarlas bajo refrigeración hasta su estudio (García, 1988).

3.3.1. PREPARACIONES CITOLOGICAS

3.3.1.1. PREPARACIONES MITOTICAS

Después los ápices radiculares fueron hidrolizados en ácido clorhídrico 1 N a 60° C durante 16 minutos (figura 6), los ápices fueron colocados en el reactivo de Schiff durante 20 minutos, tiempo en el que generalmente los cromosomas presentan una buena coloración. Una vez coloreados los ápices, se colocaron durante 20 minutos en citasa, que es un complejo de enzimas que forman el jugo gástrico del caracol de jardín, obtenida siguiendo la técnica descrita por García (1988). Esto con el fin de disolver la lámina media de las células y lograr preparaciones con células bien separadas.

Figura 6. Diagrama de flujo.
Trabajo de laboratorio



Se procedió a elaborar la preparación de la siguiente manera: se pone sobre un portaobjetos una pequeña porción de la raíz en una gota de ácido propiónico al 45%, enseguida se coloca un cubreobjetos sobre el tejido y se golpea ligeramente con el cabo de una aguja de disección con el fin de dispersar las células; se aplica presión con la yema del dedo pulgar sobre el cubreobjetos y finalmente se sellan los bordes del mismo con una mezcla de cera de abeja y parafina (1:1), quedando lista la preparación para ser observada al microscopio.

3.3.1.2. PREPARACIONES MEIOTICAS

Para la observación de los cromosomas en diacinesis y metafase I, en las plantas de maíz, teocintle y los híbridos resultantes, las espigas fueron fijadas en Farmer durante 48 horas (figura 6); después de ese tiempo se sustituyó el fijador por alcohol etílico al 70% y se conservaron bajo refrigeración. Las preparaciones para las observaciones citológicas de los meiocitos se hicieron con la técnica tradicional del carmín propiónico siguiendo la descripción dada por García (*op cit.*)

De las inflorescencias fijadas se tomaron las anteras, se colocan sobre un portaobjetos en una gota de carmín propiónico al 1% y con un bisturí se cortan transversalmente y se presiona ligeramente para extraer los meiocitos. Se observa al microscopio para determinar en que fase se encuentran los meiocitos. Si es la fase requerida, se procede a terminar la preparación. Se retiran de la gota de carmín las partes de las anteras; si es necesario se pone una gota de ácido acético al 45% en la gota de carmín para lograr una mejor decoloración del citoplasma, a continuación se coloca un cubreobjetos sobre la gota y se calienta ligeramente la preparación sobre la flama de una lámpara de alcohol cuidando de que no hierva; se calienta las veces necesarias hasta que los cromosomas contrasten con el citoplasma ya decolorado. Finalmente se sellan los bordes del

cubreobjetos con la mezcla de cera y parafina quedando lista la preparación temporal para las observaciones citológicas.

IV. ANALISIS CITOLOGICO

Las observaciones en los ápices radiculares se realizaron en metafase mitótica en los tres tipos de semillas. Se tomaron fotografías de 10 células en metafase mitótica, de plantas de maíz, teocintle y la F1, que mostraron los 20 cromosomas con buena separación y coloración. El tamaño de los cromosomas se determinó efectuando mediciones en milímetros y haciendo las conversiones correspondientes a micrómetros en base a la escala micrométrica fotografiada.

El tamaño absoluto de los cromosomas se determinó en cada una de las células fotografiadas. Con base a esta información los cromosomas del complemento fueron ordenados de mayor a menor. 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 (Levan, 1964).

Para los cromosomas meióticos, las observaciones se llevaron a cabo en 400 aumentos en las fases de diacinesis y metafase I. Se observaron 200 células de 20 plantas (10 células por cada una) para cada tipo de planta y fase. El conteo del número de quiasmas se hizo en base a la interpretación dada para la configuración de cada bivalente por Darlington (1934) y Ward (1976, 1979) en las células de cada planta analizada. Se contó el número de quiasmas intercalares y

terminales y el total por bivalente. De la suma del número de quiasmas de los 10 bivalentes se obtuvo la frecuencia por célula.

V. ANALISIS ESTADISTICO

Con el fin de determinar si había diferencias estadísticamente significativas entre las plantas progenitoras y sus híbridos, así como entre la fase de diacinesis y metafase, 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 planta y la fase, y la variable fue el número de quiasmas.

Posteriormente, para determinar cual o cuales medias diferían, se aplicó una prueba de comparación múltiple de medias (prueba de la diferencia mínima significativa o LSD).

Tomando en cuenta que el número total de quiasmas está determinado por 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 aplicó un análisis de varianza para cada uno de los diez cromosomas teniendo como factor la planta. Se aplicó este análisis tomando en cuenta que los datos son independientes y se distribuyen de manera normal.

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1. FRECUENCIA DE QUIASMAS

Los resultados del número de quiasmas totales, intercalares y distales, por célula de las plantas estudiadas en el presente trabajo se muestran en el cuadro 1A y 1B. Los datos del análisis estadístico aparecen en la tabla 2 ANOVA para el número de quiasmas en diferentes posiciones en plantas de maíz, teocintle y la F1. Se puede observar que el valor de F calculada y el valor establecido por la F de tablas nos indica que sí hay diferencias significativas entre las medias del número de quiasmas, lo cual sugiere ciertas modificaciones en el genoma de una o ambas plantas; como lo son diversas inversiones encontradas en plantas de teocintles de México, entre ellos el teocintle Chalqueño (Kato, 1976), traslocaciones, o bien por mutaciones en loci genéticos como los que marcan las diferencias morfológicas entre el maíz y el teocintle (Doebley J. and Adrian Stec, 1991, 1993; Paterson *et al* 1995).

La frecuencia de quiasmas totales (Cuadro 1A y 1B) obtenidos para maíz fue de 21.88 y 21.02, y de 23.31 y 21.63 para teocintle en metafase 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 (Nilson *et al*, 1993).

En la fase de diacinesis las plantas progenitoras no mostraron diferencias significativas en la frecuencia de quiasmas totales, sin embargo, los quiasmas intercalares y distales si muestran diferencias estadísticamente significativas (Cuadro 1B). El promedio en teocintle (5.36) para los

Cuadro 1A. Número promedio de quiasmas por célula en metafase meiótica. Los números superiores son los límites de variación, mínimo y máximo, y los inferiores son el valor promedio de los datos obtenidos de 200 células observadas.

PLANTA	QUIASMAS TOTALES	QUIASMAS INTERCALARES	QUIASMAS DISTALES
MAÍZ	20.9 - 23.0 21.88	4.7 - 7.6 5.84	15.4 - 17.6 16.12
TEOCINTLE	20.8 - 25.4 23.31	5.0 - 9.6 7.10	15.1 - 18.2 16.20
MAÍZ-TEOCINTLE	15.0 - 18.2 16.63	0.8 - 2.8 1.71	13.7 - 15.9 14.90
TEOCINTLE-MAÍZ	15.5 - 17.0 16.20	1.0 - 2.1 1.48	14.1 - 15.3 14.72

Cuadro 1B. Número promedio de quiasmas por célula en diacinesis. Los números superiores son los límites de variación, mínimo y máximo, y los inferiores son el valor promedio de los datos obtenidos de 200 células observadas.

PLANTA	QUIASMAS TOTALES	QUIASMAS INTERCALARES	QUIASMAS DISTALES
MAÍZ	18.7 - 23.4 21.02	2.2 - 7.2 4.26	14.2 - 18.1 16.76
TEOCINTLE	18.8 - 24.9 21.63	3.0 - 7.4 5.36	14.5 - 17.8 16.27
MAÍZ-TEOCINTLE	16.4 - 17.8 16.90	1.1 - 2.7 1.69	14.7 - 15.6 15.21
TEOCINTLE-MAÍZ	15.2 - 19.3 16.69	0.7 - 2.4 1.65	13.2 - 16.7 15.02

TABLA 2. ANOVA: Análisis de varianza para el número de quiasmas en diferente posición en plantas de maíz, teocintle y la F1.

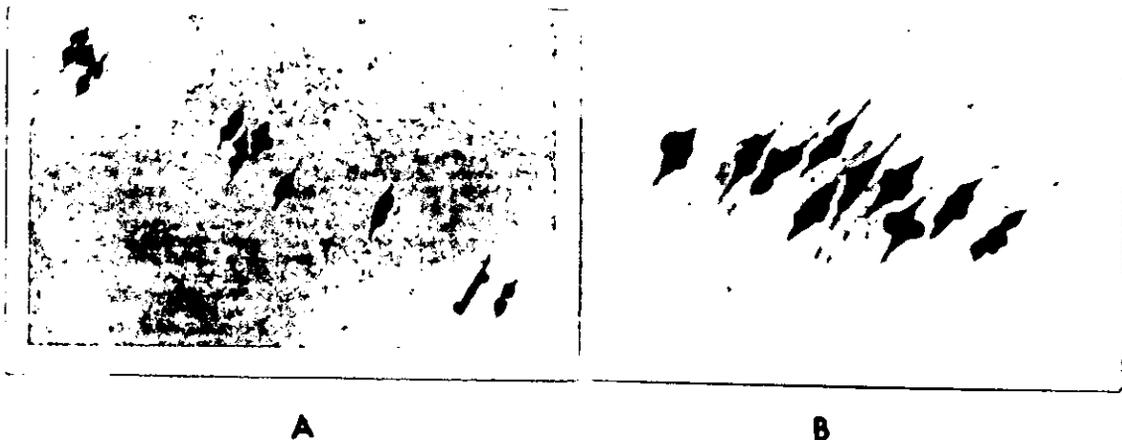
QUIASMAS	FACTORES	F CALCULADA	F 0.05
TOTAL	PLANTA	229.00	0.000
	FASE	4.52	0.035
INTERCALAR	PLANTA	153.1917	0.000
	FASE	16.8108	0.000
DISTAL	PLANTA	25.00	0.000
	FASE	4.2737	0.040

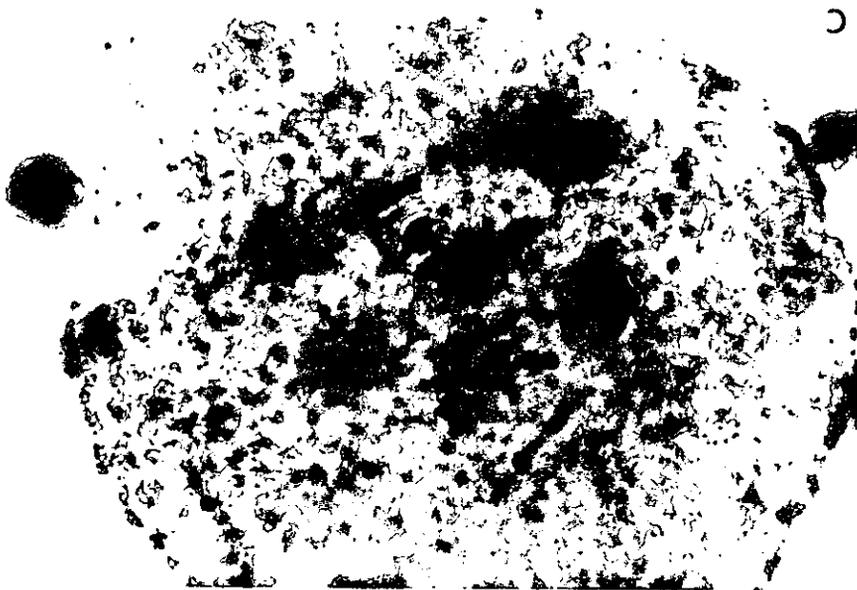
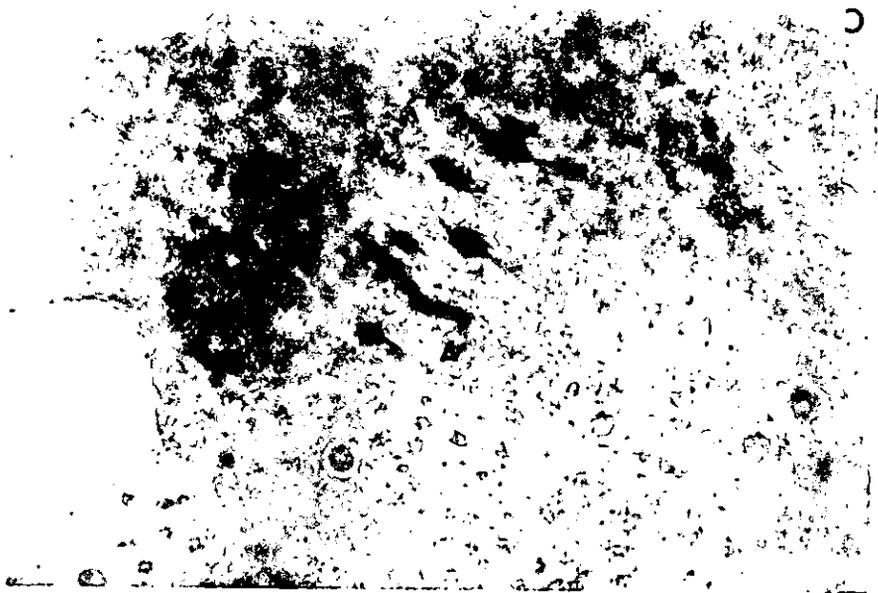
quiasmas intercalares fue mayor a los del maíz (4.26). Mientras que en los quiasmas distales el promedio para las plantas de maíz (16.76) fue superior al teocintle (16.27).

Varios estudios han demostrado que los cambios en la frecuencia de entrecruzamiento es debida a alteraciones en la estructura genética (Nilson *et al*, 1993, Fatmi *et al*, 1993; Doebley *et al*, 1995). Siendo los valores de la frecuencia total de quiasmas tan similares en teocintle y maíz, podría esperarse que la constitución de los genes que regulan el entrecruzamiento fuera muy parecida debido a la estrecha relación filogenética entre ambas plantas, no obstante las diferencias en la frecuencia de quiasmas intercalares y distales 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 especies, por la selección natural en el teocintle y por la mano del hombre en el maíz al ir seleccionando aquellas características acordes a sus necesidades.

En metafase (figura 7) los quiasmas totales e intercalares tuvieron diferencias estadísticamente significativas, en las plantas de teocintle (23.31 y 7.10) comparando con la frecuencia obtenida para las plantas de maíz (21.88 y 5.84) respectivamente, mientras que en los quiasmas distales no hubo diferencias significativas, lo cual nos indica que la diferencia en los quiasmas totales entre el maíz y el teocintle es dada por los quiasmas intercalares. Posiblemente, el incremento en la frecuencia de quiasmas intercalares en metafase del teocintle con respecto a la diacinesis pudo haberse debido a errores en la interpretación de los quiasmas, pues en la metafase incrementa la condensación de los cromosomas reduciendo la resolución citológica.

Figura 7. 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) F1 (maíz x teocintle Chalqueño).





Las plantas híbridas mostraron una frecuencia muy similar entre sí en los quiasmas totales (Cuadro 1A y 1B), intercalares y distales tanto en la fase de diacinesis como en la de metafase, no habiendo diferencias estadísticamente significativas entre maíz-teocintle chalqueño, teocintle chalqueño-maíz, al aplicar la prueba de la diferencia mínima significativa o LSD.

Sin embargo al comparar los promedios de los números de quiasmas de las plantas híbridas con sus progenitores se observa que en la frecuencia total hay diferencias estadísticamente significativas. Resultados similares obtuvieron Doebley and Stec (1991) en los valores de recombinación entre la región UMC107-UMC83 del brazo largo del cromosoma 1. Los valores de recombinación en plantas de maíz fue de 27.5, mientras en plantas de maíz-teocintle Chalqueño fue de 6.6. Esto podría deberse a las diferencias estructurales entre los cromosomas de maíz y sus respectivos homólogos del teocintle en el híbrido, lo cual impide un completo apareamiento entre los cromosomas previniendo la formación de quiasmas y por tanto el intercambio genético se ve reducido.

Al comparar la frecuencia de quiasmas intercalares entre progenitores y las plantas híbridas, se observa 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 el 6% con respecto a los progenitores. Es muy notorio que los quiasmas intercalares sufrieron una mayor disminución que los quiasmas distales. Resultados muy similares han sido obtenidos en trabajos de hibridación de maíz con teocintle, Arnason (1936, citado por Kato 1976) observó en la fase de diacinesis en híbridos maíz-teocintle Durango, maíz-teocintle Florida una gran proporción de

configuraciones en forma de aro, indicando que estaban presentes quiasmas en la parte terminal de las cromátidas. Esto podría sugerir 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 de maíz, teocintle chalqueño e híbridos en diacinesis y metafase podemos observar (cuadro 1A y 1B) 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 (Darlington, 1965), pues en metafase no se vieron incrementados los quiasmas distales o disminuidos los intercalares. De lo contrario, si hubiera terminalización la frecuencia total de quiasmas se ve reducida en metafase con respecto a diacinesis, y los quiasmas intercalares disminuyen y aumentan los distales de una fase a otra. Nuestros resultados concuerdan con los obtenidos en los trabajos de Ward (1976, 1979) y Nils-otto Nilson *et al.* (1993). Quienes mencionan que no hay evidencias de terminalización en maíz al no encontrar diferencias significativas en la frecuencia de quiasmas entre diacinesis y metafase.

Al hacer el análisis de correlación simple, para ver que tipo de quiasmas (intercalares o distales) afectan principalmente la frecuencia total, obtuvimos un índice de correlación de 0.65 entre los distales contra los totales, lo cual indica que si 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.

6.2. APAREAMIENTO CROMOSOMICO

En las plantas 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 (figura 8). Estas configuraciones cromosómicas afectan tanto la regularidad de la meiosis como la fertilidad de los gametos que se producen y al producirse gametos inviables se ve disminuida notoriamente la probabilidad de que se establezca en la naturaleza una planta híbrida con estas características. En el 59 por ciento restante de las células examinadas, se presentaron 10 bivalentes, de los cuales algunos presentaban como máximo dos quiasmas y otros estaban unidos solo por un extremo (figura 9C).

Como se observa en el cuadro 2 la proporción de univalentes y trivalentes no fue muy semejante en el híbrido maíz-teocintle y el híbrido teocintle-maíz. En este último caso se presentó un mayor número de éstas asociaciones cromosómicas. La presencia de los univalentes es atribuible a la falta de homología entre algunos cromosomas homólogos no apareados, probablemente por falta o diferente distribución de segmentos homólogos en tales cromosomas. Desafortunadamente, por el grado de compactación de los cromosomas en diacinesis y metafase no es fácil saber de que cromosomas se trata.

Sin embargo, no se descarta el hecho de que el maíz (híbrido simple H-311) utilizado en este trabajo 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

Figura 8. Células meióticas de la F1 en diacinesis con 7 bivalentes y un hexavalente.

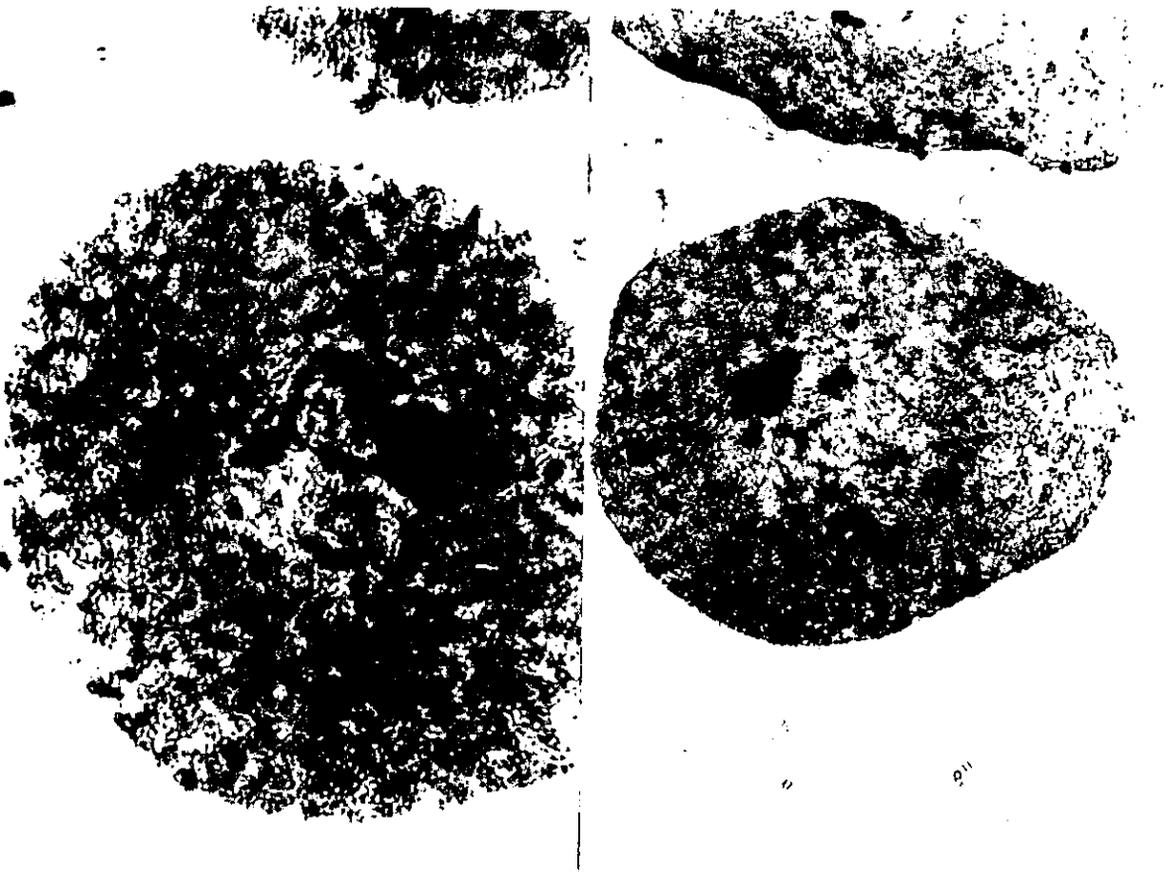
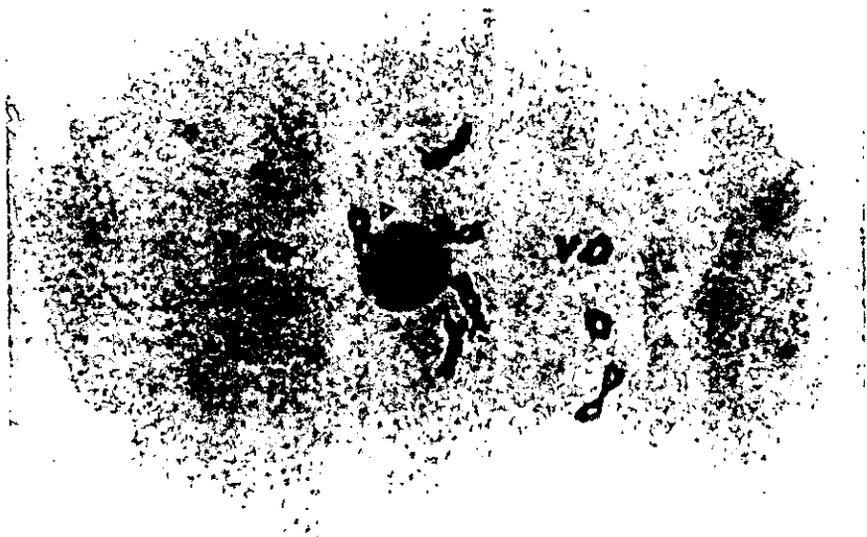
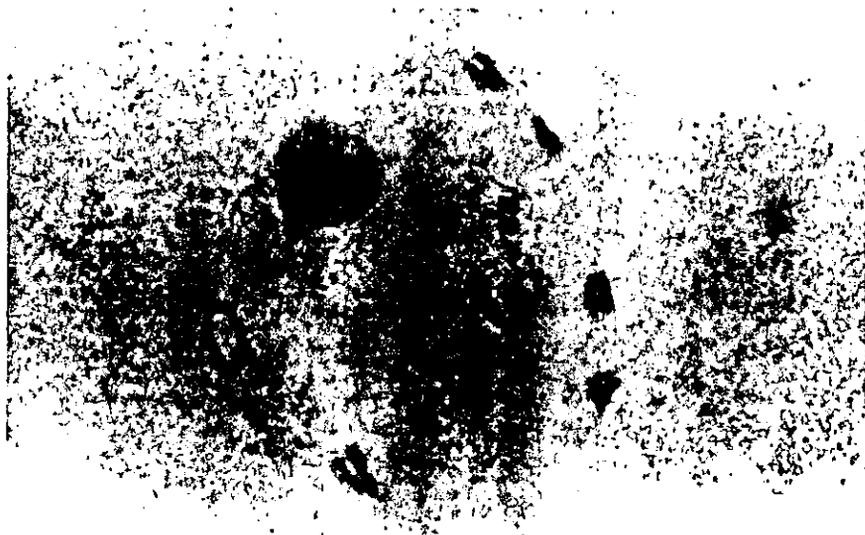


Figura 9. Cromosomas meióticos (Diacinesis). Diez pares, bivalentes de cromosomas homólogos. Cromosoma 6 unido al nucleólo. A) *Zea mays ssp. máys*, B) *zea mays ssp. mexicana*, C) F1 (maíz x teocintle Chalqueño), algunos bivalentes unidos solamente por un extremo.

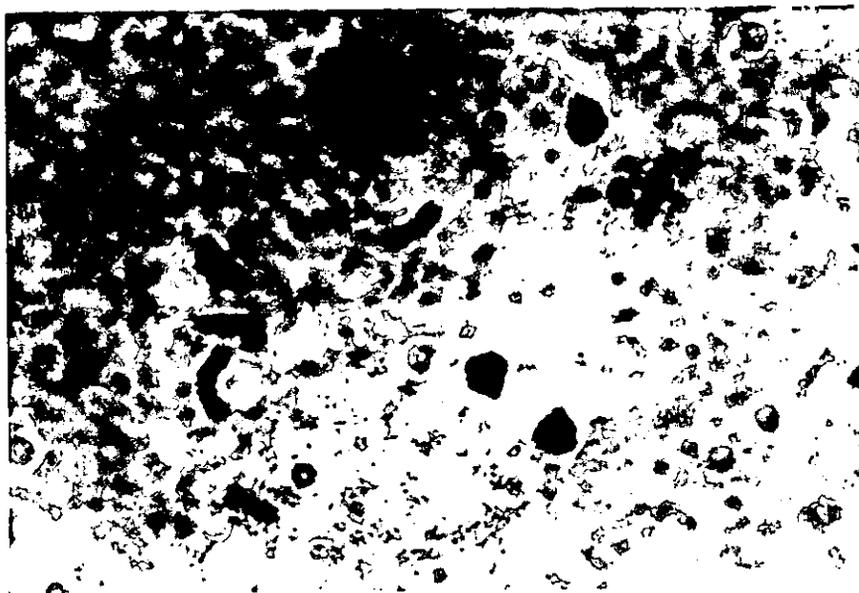
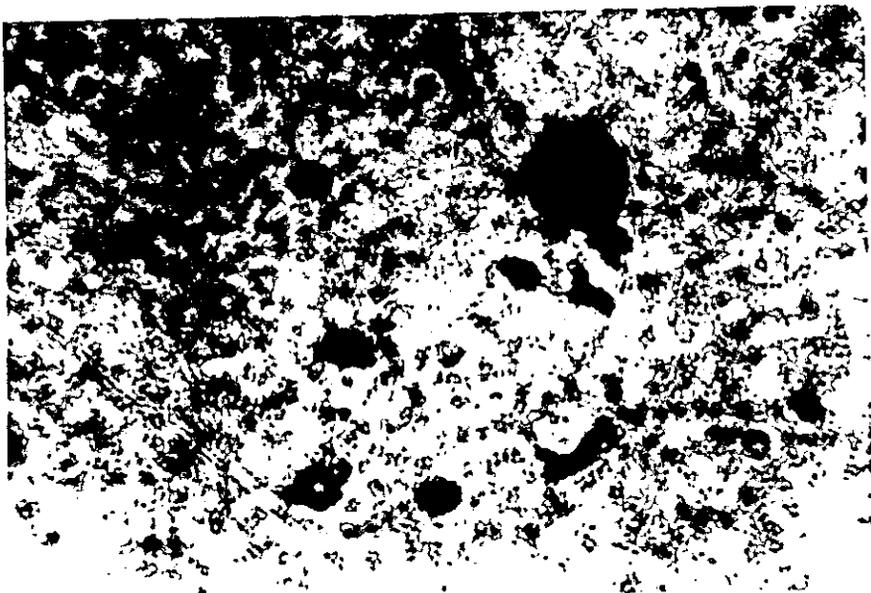


A



B

C



Cuadro 2. Frecuencia de distintas configuraciones cromosómicas en la F1. Datos obtenidos de 200 células observadas.

	MAIZ-TEOCINTLE		TEOCINTLE-MAIZ	
	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

de maíz se encontraron dos univalentes (figura 10), y es sabido que el apareo 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 (Adrián F. Dyer D. Phil, 1979).

La formación de multivalentes significa que al menos un cromosoma tiene regiones homólogas con otros cromosomas no homólogos (Dyer , 1979; Sybenga, 1975). En este caso los trivalentes, tetravalentes, pentavalentes y hexavalentes son indicadores de traslocaciones en el genomio de una o las dos plantas en el transcurso del tiempo. Las traslocaciones que más favorecen las configuraciones multivalentes son las terminales, pues permiten la formación de las cadenas o aros (Sybenga, *op cit.*; Curtis, 1976) que fue lo más comunmente observado.

La formación de trivalentes pudo haber sido menor que la de otras configuraciones por la competencia entre los bivalentes homólogos por el apareamiento entre ellos. Los resultados de este estudio contrastan con lo obtenido por Longley (1924) en un estudio de híbridos F1 de maíz y la variedad Chalco en donde encontró 10 bivalentes de regular comportamiento en meiosis. Resultados similares a los de Longley fueron obtenidos por Beadle (1932, citado por Kato, 1976), él menciona que el apareo de los cromosomas del teocintle Chalco con los cromosomas del maíz es completo.

Por otra parte, el apareamiento irregular entre teocintle Chalqueño y el maíz utilizado nos muestra 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, tal vez a inversiones, las cuales previenen

Figura 10. Célula en diacinesis de maíz (Híbrido simple H-311) con nueve bivalentes y dos univalentes.



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 y teocintle.

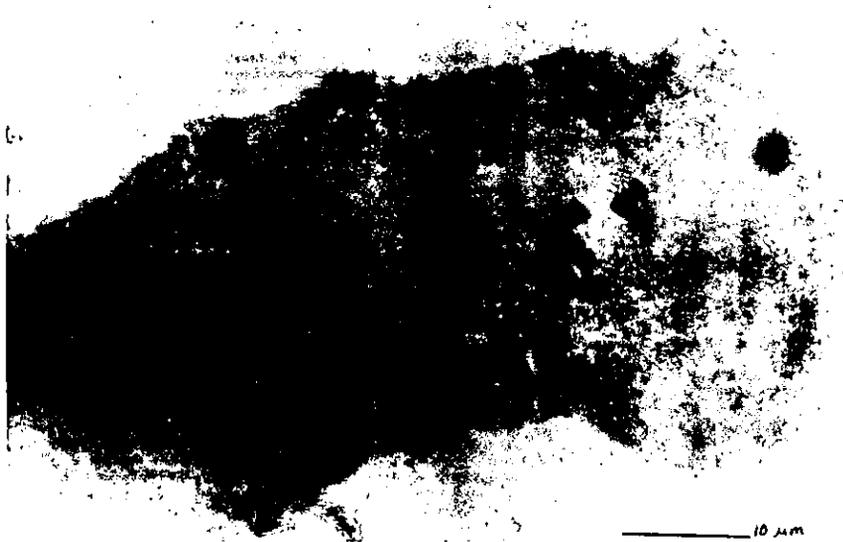
6.3. CARIOTIPO

De las características que definen el cariotipo, en el presente trabajo se comparó el tamaño absoluto y relación de brazos de plantas de maíz, teocintle Chalqueño y la F1. Se analizaron 10 células en metafase mitótica (figura 11), tanto de maíz como de teocintle así como del híbrido resultante. 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* (figura 12A y B).

Para determinar si existen diferencias significativas entre las medias de la longitud total de los cromosomas y del genomio total del maíz, teocintle y la F1 se aplicó un análisis de varianza para cada uno de los 10 cromosomas, así como para la cromatina total.

Los datos del análisis estadístico para los cromosomas del 1 al 10 y de la cromatina total aparecen en la tabla 3 y 4 de ANOVA. Se puede observar en estas tablas que el valor de F calculada 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 plantas, así como entre las medias de la longitud total de sus genomios.

Figura 11 Cromosomas en metafase mitótica en células del ápice radical, $2n = 20$, satélites en cromosoma 6. A) *Zea mays ssp. mays* B) *Zea mays ssp. mexicana* C) F1 (maíz x teocintle Chalqueño).



A



B



C

Figura 12A. Idiograma de *Zea mays ssp. mays*.

micrómetros

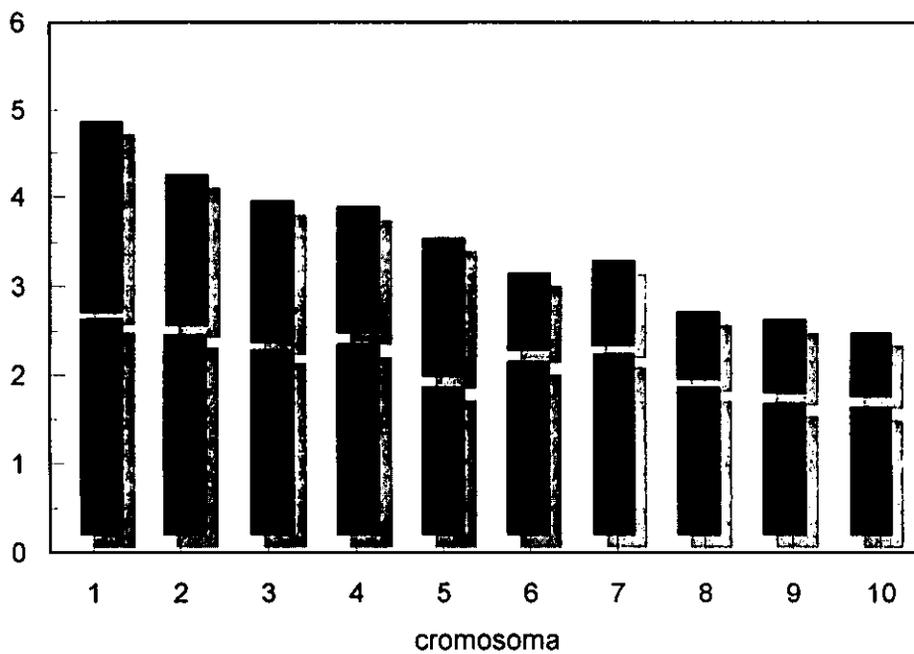


Figura 12B. Idiograma de *Zea mays ssp. mexicana*.

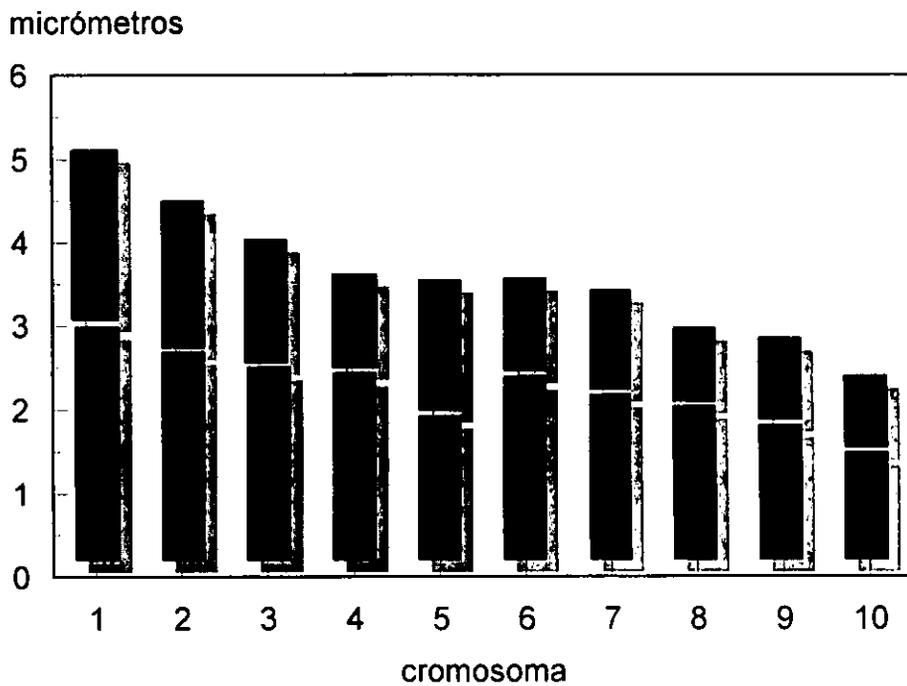


Figura 12 C. Idiograma de la F1 (maíz x teocintle Chalqueño)

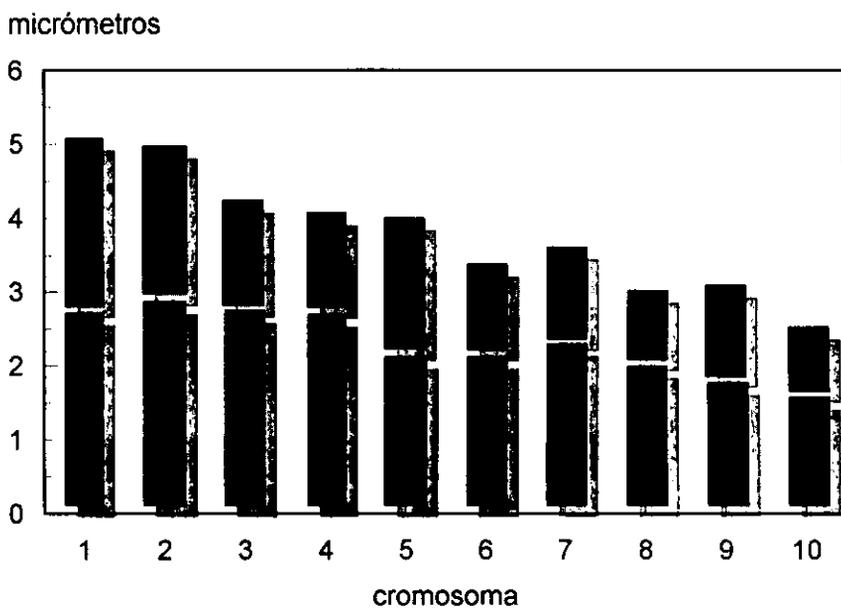


TABLA 3 ANOVA.: Análisis estadístico para la longitud total de los cromosomas de *Zea mays ssp.mays*, *Zea mays ssp. mexicana* y la F1.

		M.	S.E.	F. CALCULADA	F. TABLAS
1	TRATAMIENTO	0.2790	0.1395	0.354	3.35
	ERROR	10.6365	0.3939		
2	TRATAMIENTO	0.5609	0.2804	2.653	3.35
	ERROR	2.8534	0.1056		
3	TRATAMIENTO	0.2562	0.1281	0.544	3.35
	ERROR	6.3493	0.2351		
4	TRATAMIENTO	0.4121	0.2060	1.18	3.335
	ERROR	4.7107	0.1744		
5	TRATAMIENTO	0.2024	0.1012	2.0909	3.35
	ERROR	1.3075	0.0484		
6	TRATAMIENTO	0.5254	0.2627	0.722	3.35
	ERROR	9.8124	0.3634		
7	TRATAMIENTO	0.0054	0.0027	0.003	3.35
	ERROR	2.1814	0.8079		
8	TRATAMIENTO	0.0714	0.0357	0.859	3.35
	ERROR	1.1218	0.0415		
9	TRATAMIENTO	0.5375	0.2687	2.995	3.35
	ERROR	2.4223	0.0897		
10	TRATAMIENTO	0.1160	0.0580	0.519	3.35
	ERROR	3.1307	0.1116		

TABLA 4 ANOVA: Análisis estadístico para la longitud total de cromatina de *Zea mays ssp. mays*, *Zea mays ssp. mexicana* y la F1.

TIPO DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADO	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	F TABLAS 0.05
DEBIDO AL TRATAMIENTO	2	0.78414	0.39207	0.09458	3.35
DEBIDO AL ERROR	27	111.91858	4.1451		
TOTAL	29	112.70272			

En todas las plantas analizadas se observó el número somático $2n = 2X = 20$. El tamaño de los cromosomas en los tres tipos de plantas resultó ser muy similar (cuadro 3, 4 y 5). 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 micrómetros para maíz, teocintle y la F1 respectivamente (figura 11). Estos datos concuerdan con lo reportado por Vishnyakov and Kometiani (1988) y Chen (1969). Ellos reportan una longitud total de los cromosomas de maíz entre 2 y 5 micrómetros. Por lo anteriormente citado podemos decir que al menos en cuanto a las características visibles del genomio (Número cromosómico, longitud cromosómica, posición del centrómero y constricciones secundarias) del maíz y del teocintle Chalqueño no ha habido cambios evolutivos significativos.

La relación de brazos es muy importante para poder clasificar los cromosomas y obtener el cariotipo completo (Levan, et al.1964). Basándonos en las mediciones realizadas se calculó la relación de brazos (BL/BC) resultando muy similar entre los homólogos. En los cuadros 3, 4 y 5 se observa el promedio para cada uno de los cromosomas en los tres tipos de planta. Estos valores concuerdan con los obtenidos en metafase mitótica por Chen (1969) y Aguiar (1985).

Comparando las posiciones del centrómero de cada uno de los cromosomas con sus respectivos homólogos en los tres tipos de planta, podemos observar (cuadro 6) que solamente los cromosomas 1, 2, 6, y 8 presentan la misma nomenclatura (m, m, sm, y sm, respectivamente) para la posición del centrómero. En los demás varía de metacéntrico a submetacéntrico en una de las plantas con respecto a las otras dos. En los trabajos anteriormente citados obtuvieron una variación similar entre plantas de maíz.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

Cuadro 3. Características del cariotipo mitótico promedio ($n=X=10$) de *Zea mays ssp. mays*. Los valores superiores son los límites de variación, mínimo y máximo, y los inferiores son el valor promedio de los datos obtenidos de 10 células.

CROMOSOMA	LOGITUD CROMOSOMICA	DIMENSION BRAZO LARGO	DIMENSION BRAZO CORTO	RELACION DE BRAZOS	POSICION DEL CENTROMERO
1.	4.31 - 5.90 4.76	2.08 - 3.00 2.54	1.50 - 2.90 2.22	1.03 - 1.40 1.14	m
2.	3.57 - 4.58 4.15	1.91 - 2.50 2.42	1.58 - 2.08 1.73	1.15 - 1.58 1.39	m
3.	3.58 - 4.41 3.90	1.83 - 2.50 2.28	1.25 - 1.83 1.62	1.00 - 2.00 1.40	m
4.	3.32 - 4.16 3.73	1.16 - 2.50 2.32	1.08 - 1.66 1.43	1.00 - 2.31 1.60	m
5.	2.99 - 3.82 3.46	1.66 - 2.16 1.79	1.16 - 1.83 1.61	1.00 - 1.30 1.11	m
6.	2.66 - 3.33 2.97	1.66 - 2.75 2.13	0.83 - 1.16 0.93	1.43 - 3.01 2.18	sm
7.	2.58 - 3.66 3.14	1.66 - 2.75 2.13	0.75 - 1.41 1.00	1.50 - 3.02 2.13	sm
8.	2.50 - 3.40 2.73	1.66 - 2.00 1.78	0.75 - 1.57 0.95	1.16 - 2.40 1.87	sm
9.	2.21 - 2.74 2.41	1.21 - 1.83 1.55	0.75 - 1.00 0.87	1.21 - 2.21 1.78	sm
10.	1.30 - 2.58 2.26	1.25 - 1.75 1.51	0.50 - 0.83 0.79	1.50 - 2.50 1.91	sm

m, metacéntrico, sm, submetacéntrico.

Cuadro 4. Características del cariotipo mitótico promedio ($n=X=10$) de *Zea mays ssp. mexicana*. Los valores superiores son los límites de variación, mínimo y máximo, y los inferiores son el valor promedio de los datos obtenidos de 10 células.

CROMOSOMA	LONGITUD CROMOSOMICA	DIMENSION BRAZO LARGO	DIMENSION BRAZO CORTO	RELACION DE BRAZOS	POSICION DEL CENTROMERO
1.	3.99 - 5.49 4.64	2.16 - 3.16 2.59	1.66 - 2.33 2.05	1.07 - 1.50 1.26	m
2.	3.91 - 4.66 4.13	1.80 - 2.91 2.43	1.59 - 2.00 1.71	1.11 - 1.66 1.42	m
3.	3.16 - 5.33 3.99	2.08 - 2.50 2.39	1.00 - 2.08 1.49	1.08 - 2.80 1.60	m
4.	2.66 - 5.13 3.44	1.83 - 2.50 2.20	0.75 - 1.66 1.24	1.15 - 3.46 1.77	m
5.	2.91 - 3.65 3.26	1.58 - 1.83 1.72	1.31 - 1.82 1.53	1.00 - 1.39 1.12	m
6.	2.66 - 5.13 3.30	1.66 - 3.30 2.19	0.83 - 1.83 1.11	1.63 - 3.01 1.97	sm
7.	2.75 - 3.50 3.10	1.66 - 2.50 1.94	0.75 - 1.66 1.17	1.00 - 2.90 1.65	m
8.	2.30 - 2.99 2.65	1.58 - 2.08 1.79	0.66 - 1.08 0.86	1.53 - 3.03 2.08	sm
9.	1.82 - 2.91 2.45	1.25 - 1.75 1.60	0.75 - 1.25 0.95	1.32 - 2.10 1.68	m
10.	1.66 - 2.91 2.22	1.00 - 1.66 1.29	0.66 - 0.91 0.83	1.20 - 2.21 1.55	m

m, metacéntrico; sm, submetacéntrico.

Cuadro 5. Características del cariotipo mitótico promedio ($n=X=10$) de la F1 (maíz-teocintle Chalqueño). Los valores superiores son los límites de variación, mínimo y máximo, y los inferiores son el valor promedio de los datos obtenidos de 10 células.

CROMOSOMA	LONGITUD CROMOSOMICA	DIMENSION BRAZO LARGO	DIMENSION BRAZO CORTO	RELACION DE BRAZOS	POSICION DEL CENTROMERO
1.	3.75 - 5.91 4.59	2.00 - 3.16 2.49	1.66 - 2.75 2.09	1.00 - 1.40 1.19	m
2.	4.19 - 5.18 4.43	2.40 - 2.83 2.55	1.73 - 2.35 1.89	1.20 - 1.45 1.35	m
3.	2.83 - 4.33 3.76	1.83 - 2.66 2.44	1.00 - 1.75 1.33	1.47 - 2.56 1.83	sm
4.	2.83 - 4.049 3.58	1.83 - 2.83 2.36	0.83 - 1.66 1.22	1.37 - 3.01 1.93	sm
5.	2.99 - 3.66 3.37	1.66 - 1.84 1.73	1.33 - 1.83 1.62	1.00 - 1.24 1.06	M
6.	2.53 - 3.49 3.01	1.66 - 2.41 1.97	0.83 - 1.41 1.04	1.17 - 2.90 1.82	sm
7.	2.56 - 3.49 3.16	1.41 - 2.58 1.99	0.91 - 1.66 1.17	1.05 - 2.83 1.70	m
8.	2.49 - 2.83 2.61	1.66 - 2.00 1.76	0.83 - 1.08 0.85	1.53 - 2.40 2.07	sm
9.	2.25 - 3.33 2.71	1.25 - 1.83 1.58	0.75 - 1.66 1.13	1.00 - 1.53 1.39	m
10.	1.66 - 2.49 2.11	0.91 - 1.66 1.33	0.66 - 0.83 0.79	1.21 - 2.21 1.68	m

m, metacéntrico; sm, submetacéntrico; M, metacéntrico (posición centromérica estrictamente media).

CUADRO 6. POSICION DEL CENTROMERO Y SATELITES EN CROMOSOMAS DE MAIZ, TEOCINTLE Y LA F1.

CROMOSOMA	MAIZ	TEOCINTLE	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

m, metacéntrico; sm, submetacéntrico; M, metacéntrico (posición estrictamente media).
 * presencia de satélites.

Aguiar *et al* (*op cit*) en un estudio de bandeo específico para nudos cromosómicos obtuvo 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 puede explicar la variación en la relación de brazos y por lo tanto la variación en la nomenclatura del centrómero para los cromosomas 3, 4, 5, 7, 9 y 10 del maíz con respecto a sus homólogos en el teocintle y la F1, no olvidando que en algunas ocasiones puede deberse al grado de compactación diferencial de los cromosomas como una diferente respuesta de las plantas a los reactivos, 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 paquiténicos. Para estos últimos se dan posiciones subterminales para los cromosomas 6 y 8 de maíz y teocintle (Kato, 1976; McClintock *et al.*, 1981); el cromosoma 6 en el presente trabajo resultó submetacéntrico al igual que en el trabajo de Chen (1969), aún cuando Aguiar (1968) lo reporta como metacéntrico. El cromosoma 8 es reportado como submetacéntrico en este estudio coincidiendo con Chen y Aguiar (*op cit.*) (fig. 12A y 12B).

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 siendo de 33.51 micrómetros y la

mínima para el teocintle con una longitud de 33.18 micrómetros. La longitud de cromatina total para la F1 fue intermedia con una longitud de 33.33 micrómetros.

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 iguales, aunado a esto, a pesar de haberse presentado univalentes, trivalentes, tetravalentes y hexavalentes, en un 59% de las células analizadas se observaron 10 bivalentes aún cuando la frecuencia de quiasmas se vió reducida a solo uno o dos quiasmas por bivalente. Esta homología entre los cromosomas de teocintle y maíz indica que estas dos plantas tienen una estrecha relación filogenética, y dado que el teocintle presenta características más primitivas como lo son la desarticulación de sus semillas para dispersarse por sí solo y la pequeña masa de sus semillas que les permite penetrar fácilmente en el suelo (Peterson, *et al.* 1995), como lo mencionan diversos investigadores, éste es probablemente progenitor del maíz.

VII. CONCLUSIONES

- ◆ Los cromosomas mitóticos en los tres tipos de genomio presentan una longitud que va de 2 a 5 micrómetros.
- ◆ El cariotipo mitótico en maíz, teocintle y 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, presentándose univalentes, trivalentes, tetravalentes, pentavalentes y hexavalentes.
- ◆ Existen “probables” diferencias estructurales entre los cromosomas del maíz con sus respectivos homólogos en el teocintle.
- ◆ La frecuencia de quiasmas intercalares en la F1 disminuyen más notoriamente que los distales en ambas fases.
- ◆ La frecuencia de quiasmas totales se ve afectada directamente por el aumento o disminución de los quiasmas intercalares en ambas fases.

- ◆ En el maíz y en el híbrido no hubo diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia de quiasmas entre diacinesis y metafase, indicando que no hay terminalización.
- ◆ El maíz y el teocintle chalqueño presentan una estrecha relación filogenética, dado que tienen el mismo número cromosómico, sus cromosomas una longitud y relación de brazos similar, además de haber apareamiento e intercambio genético entre los cromosomas de ambas plantas cuando se encuentran en el híbrido F1.

RECOMENDACION

- ◆ Sería de interés hacer un estudio comparativo entre los cromosomas de estas plantas por medio de bandedo.

VIII. BIBLIOGRAFIA

Aguir-Perecin M.L.R. de y Vosa C.G. 1985.C-Banding in maize II. Identification of somatic chromosomes. **Heredity** 54: 37-42.

Aguirre, G.C.D. y T.A. Kato Y. 1979. Competencia entre el polen de Maíz y de teocintle durante la fecundación. **Agrociencia**, No 37.

Carlson, G.W. 1986. The B chromosome of maize. **Critical Reviews in plant Sciences**, 3(3): 201-226.

Collins, G.N. 1921 Teosinte in Mexico. **Journal Heredity**, 12:339-350.

Chen, C.C. 1969 The somatic Chromosomes of maize. **Canadian Journal. Genetic Cytology** 11:752-754.

Curtis, P.J. 1976. Introducción a la citología vegetal. **Fitotecnica** Universidad Autónoma Chapingo.

Darlington, C.D. 1934. The origin and behavior of chiasmata, y. *Zea mayz. Z. ind. Z. Verebungsl*, 67:96-114.

Doebley, J.F. y H. H. Iltis 1980. Taxonomy of *Zea* (graminae). I.A. subgeneric classification with key to taxa. **American Journal of Botany**, **67(6)**:982-993.

_____ y A .Stec 1991. Genetic analysis of the Morphological Differences Between Maiza and Teocinte. **Genetics** **129**: 285-295.

_____. 1993. Inheritance of the morphological differences between maize and teosinte: comparison of results for two F2 populations. **Genetics** **134**: 559-570.

_____. 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.

Dyer, A.F. 1979. Investigating chromosomes. **University of Edinburgh**.

Emerson, R.A. 1929. Genetic notes on hibrids of perennial teosinte and maize. **Amerces**, **3(3)**: 201-226.

García, V.A.1988. Técnicas y procedimientos de citogenética vegetal. Universidad Autónoma de Chapingo. 3a de. México.

Guzmán, M.R. 1978.Redescubrimiento de *Zea perennis* (Graminae). **Phytología**, **38(3)**:177.

Iltis, H.H. and J.F. Doebley 1980. Taxonomy of *Zea* (Graminae). II. Subspecific categories in the *Zea mays* complex and generic synopsis. **American Journal of Botany**, **67(6)**: 994-1004.

Iltis, H.H. J.F. Doebley, R. Guzmán y B. Pazy 1979. *Zea diploperennis* (Graminae): A new teosinte from Mexico. **Science**, **203(12)**: 186-188.

Kato, Y.T.A. 1976. Cytological studies of maize (*Zea mays*) and teosinte (*Zea mexicana* Shrader Kuntze) in relation to their origin and evolution. **Massachusetts Agricultural Experiment Station, Bulletin No 635**.

_____. 1984 Chromosome morfology and the origin of maize and its races. **Evolutionary Biology**, **17**: 219-253.

Levan, A., K. Fredga y A.A. Sandberg 1965. Nomenclature for centromeric positon on chromosomes. **Hereditas**, **52**: 201-219.

Longley, A.E. 1924. Chromosomes of maize and maize relatives. **Journal Agricultural Research**, **28**: 673-681.

_____. 1927. Supernumerary chromosomes in *Zea mayz*. **Journal Agricultural Research**, **35**: 769-784.

Mangelsdorf, P.C. y G.R.Reeves.1939 The origin of Indian corn and its relatives. **Texas Agricultural Experiment Station, Bulletin No. 574: 315.**

McClintock, B. 1933. The association of non-homologous parts of chromosomes in the mid-prophase of meiosis in *Zea mays*. **Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie, 19: 191-237.**

_____, 1934. The relation of particular chromosomal element to the development of the nucleoli in *Zea mays*. **Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie, 21: 294-328.**

_____; T.A.Y. Kato y A.Blumenschein, 1981. Constitución cromosómica de las razas de maíz. **Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.**

Nilson Nils-Otto, Tprbjörn Säll and Bengt O. Bengtsson. 1993. Chiasma and recombination data in plants: are they compatible? **Trends in genetics 9(10): 334-338.**

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 cereal Crops dy Independent Mutations at corresponding Genetic loci. **Science 269: 1714-1718.**

Randolph, L.F. 1928. Types of supernumerary chromosomes in maize. **Anatomical Record, 41: 102.**

_____. 1941. Genetic Characteristics of the B Chromosomes in maize. **Genetics**, 26: 608-631.

Reeves, R.C. y P.C. Mangelsdorf. 1942. A proposed taxonomic change in the tribe Maydeae (Family Gramineae). **American Journal of Botany**, 29: 815-817.

Rhoades, M.N. 1942 Segregation in maize. **Genetics**, 27: 395-407.

_____. 1952. Preferential segregation in maize. En. **J.W.Gowen (de). Heterosis. Iowa State College Press, Ames, Iowa.** pp. 66-80.

Rogers, J.S. 1950. Fertility relationships in maize-teosinte híbrids. **Texas Agricultural Experiment Station, Bulletin No. 730.**

Sanchez, G.J.J. y L.S.Ordaz. 1987. Systematic and ecogeographic studies on Crop Gene pools: 2.El teocintle en México. Distribución y situación actual de las poblaciones. **International Board for plant Genetic Resources, Rome.**

Shaver, D.L. 1964. Pernalism in *Zea*. **Genetics**, 50: 393-406.

Sybenga, J. 1975. Meiotic Configurations. Department of Genetics of the Agricultural University Wageningen Netherlands.

Ward, E.J. 1976. The effect of accessory chromatin on chiasma distribution in maize. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, 18: 479-484.

_____. 1939. Chiasma frequency and distribution in maize family segregation for K10 and trisomy 10. **Genetics**, 92: 223-230.

Vishnyakov D.A. and D.G. Kometiani. 1988. Karyotypic Characterization of some plants of southern regions of URSS. **Soviet Agricultural Sciences**. No.6: 13-16.

Wilkes, H.G. 1967. Teosinte: the closest relative of maize. The Bussey institution Harvard University U.S.A.

_____. 1977. Hybridization of maize and teosinte, in México and Guatemala and the improvement of maize. **Economic Botany**, 31: 254-293.