



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

**UNIDAD IRAPUATO
UNIDAD DE GENÓMICA AVANZADA**

**Caracterización de raíces milenarias de maíz provenientes de Tehuacán:
comparación con poblaciones actuales del género *Zea***

Tesis que presenta:

Iván López Valdivia

para obtener el Grado de

Maestro en Ciencias

en la Especialidad de

Biotecnología de Plantas

Directores de la Tesis:

Dr. Jean-Philippe Vielle Calzada

Dr. Rafael Montiel Duarte

Irapuato, Guanajuato

Noviembre 2019

El presente trabajo fue realizado en el grupo de Interacción Núcleo-Mitocondrial y Paleogenómica y el grupo de Desarrollo Reproductivo y Apomixis de la Unidad de Genómica Avanzada, Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (LANGEBIO) del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Politécnico Nacional, CINVESTAV-IPN Unidad Irapuato, bajo la codirección del Dr. Rafael Montiel Duarte y del Dr. Jean Philippe Vielle Calzada.

AGRADECIMIENTO

Al consejo nacional de ciencia y tecnología (CONACyT), por la beca otorgada No. 635944

"La gente, hecha de maíz, hace el maíz.
La gente, creada de la carne y los colores del maíz,
cava una cuna para el maíz, y lo cubre de buena
tierra y lo limpia de malas hierbas y lo riega y le
habla palabras que lo quieren.
Y cuando el maíz esta crecido, la gente de maíz lo
muele sobre la piedra y lo alza y lo aplaude, y lo
acuesta al amor del fuego y se le come, para que en
la gente de maíz siga el maíz caminando sin morir
sobre la tierra"

Eduardo Galeano

Agradecimientos

Quiero agradecer a mi familia que siempre me apoyó en cada momento.

A mis tutores, el Dr. Jean Philippe Vielle Calzada y el Dr. Rafael Montiel Duarte, quienes además de guiarme y formarme con el rigor que este oficio requiere, inculcaron en mí su pasión por la ciencia, lo cual aprecio enormemente.

A los miembros de mi comité, el Dr. Luis Delaye y el Dr. Stewart Gillmor que siempre aportaron ideas y perspectivas constructivas necesarias sin las cuales este proyecto no hubiese sido posible.

Al Dr. Jonathan Lynch por compartir su gran experiencia en raíces, su pasión por generar un impacto en la agricultura y su apertura para conversar de cualquier tema.

Al Instituto Nacional de Antropología e Historia (INAH), en particular a la arqueóloga Aurora Montufar y a la Bióloga Ruth Zavala, por tener la confianza de facilitarnos el acceso a la colección arqueobotánica del INAH, la cual fue fundamental para este trabajo.

Al Dr. Miguel Vallebuena quien siempre me mostró un interés genuino por compartir el conocimiento y una gran pasión por comprender los fenómenos de la naturaleza utilizando el método científico.

Al Dr. James Burridge que además de apoyarme enormemente en cuestiones técnicas del proyecto, me ayudó a adaptarme en un país extranjero y me compartió su visión filosófica e intuitiva sobre las circunstancias de la vida.

A Peter Ilhardt y Xiyu Yang por su gran apoyo en la utilización del sistema de tomografía de ablación laser y el manejo del simulador de crecimiento radicular OpenSimRoot.

Quiero agradecer a Ana Lily Solorzano, Christian Martínez Guerrero y Bob Snyder por su apoyo en las cuestiones técnicas y burocráticas que surgieron durante estos últimos dos años.

A mis amigos Omar Avilés, Daniela Martínez, Miguel Vallebuena y Eduardo González por inspirarme y compartir grandes momentos.

A mis compañeros y amigos de los laboratorios 1 y 13 por las múltiples conversaciones académicas e informales que nos unieron como grupo.

Quiero agradecer a Diana Barbosa, Jesús Vega y Eduardo Mejía por apoyarme en las cuestiones burocráticas relacionadas con mis responsabilidades académicas.

A CINVESTAV por prestar sus instalaciones y darme la oportunidad de cursar el programa de maestría en biotecnología de plantas, el cual fue un gran reto en mi formación como persona.

A CONACYT por sustentarme económicamente y hacer posible la realización de este proyecto.

Índice de contenidos

Resumen.....	1
Abstract.....	2
1 INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 Las gramíneas y su importancia agronómica.....	3
1.1.1 <i>Las Poáceas</i>	3
1.1.2 <i>El maíz</i>	8
1.2 Origen del maíz: descripción de las evidencias citogenéticas, genéticas, genómicas y paleobotánicas.....	14
1.2.1 <i>Diferencias morfológicas entre maíz y teocintle</i>	14
1.2.2 <i>Evidencias citogenéticas</i>	16
1.2.3 <i>Evidencias genómicas</i>	18
1.2.4 <i>Evidencias paleobotánicas</i>	19
1.2.5 <i>Rasgos de domesticación en la raíz de maíz</i>	20
1.3 Valle de Tehuacán y su importancia en el entendimiento del origen del maíz.....	21
1.3.1 <i>Expediciones de Richard MacNeish</i>	21
1.3.2 <i>Raíces antiguas en la cueva San Marcos</i>	23
1.4 Desarrollo y fisiología de la raíz.....	24
1.4.1 <i>Arquitectura</i>	24
1.4.2 <i>Anatomía</i>	25
1.5 Comparación del desarrollo y fisiología radicular: maíz vs teocintle.....	26
1.6 Uso de modelos para predecir el comportamiento funcional de la raíz.....	28
1.6.1 <i>Relación entre estructura y función</i>	28
1.6.2 <i>OpenSimRoot</i>	29
2 OBJETIVOS.....	31
2.1 Objetivo general.....	31
2.2 Objetivos específicos.....	31
3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
3.1 Especímenes antiguos.....	31
3.1.1 <i>Obtención</i>	31
3.1.2 <i>Datación</i>	32
3.2 Análisis morfométrico.....	32

3.2.1	<i>Arquitectura</i>	32
3.2.2	<i>Anatomía</i>	33
3.3	Modelo predictivo del crecimiento y absorción de nutrientes de la raíz antigua...	34
3.4	Análisis del gen <i>RUMI</i>	34
4	RESULTADOS.....	35
4.1	Especímenes antiguos.....	35
4.2	Arquitectura radicular.....	39
4.2.1	<i>Diámetro del tallo</i>	39
4.2.2	<i>Número de raíces seminales</i>	39
4.2.3	<i>Número de raíces coronarias</i>	40
4.2.4	<i>Diámetro del sistema radicular</i>	41
4.2.5	<i>Ángulo</i>	41
4.3	Anatomía radicular.....	42
4.3.1	<i>Área transversal y área del córtex</i>	43
4.3.2	<i>Área de la estela</i>	43
4.3.3	<i>Área del xilema</i>	44
4.3.4	<i>Área de aerénquima</i>	44
4.3.5	<i>Tamaño, filas y número de células corticales</i>	44
4.4	Comparación de rasgos de arquitectura y anatomía radicular entre las muestras antiguas y raíces actuales del género <i>Zea</i>	46
4.5	Simulaciones del crecimiento y absorción de nutrientes de la raíz antigua, maíz y teocintle actual.....	50
4.6	<i>RUMI</i> : un gen posiblemente involucrado en rasgos domesticatorios de raíz.....	51
5	DISCUSIÓN.....	54
5.1	Reconstrucción tridimensional de raíz antigua.....	54
5.2	Anatomía.....	55
5.3	Arquitectura.....	57
5.3.1	<i>Diámetro del tallo</i>	57
5.3.2	<i>Número de raíces coronarias</i>	59
5.3.3	<i>Número de raíces seminales</i>	60
5.4	Modelos predictivos.....	62
5.5	<i>RUMI</i> : un posible gen involucrado en rasgos domesticatorios.....	63
5.6	Similitudes entre los especímenes A y D.....	64

5.7	Selección indirecta sobre la raíz, tempo y modo.	65
6	CONCLUSIONES.	65
7	PERSPECTIVAS.	65
8	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	66
	Apéndices.	70

Índice de Figuras

Figura 1: Regiones de origen y diversidad de las principales gramíneas.....	5
Figura 2: Tasa de cambio en la producción mundial por año para maíz arroz y trigo.	7
Figura 3: Producción mundial de maíz.....	11
Figura 4: Representación de la arquitectura del tallo y la mazorca de un teocintle y un maíz..	15
Figura 5: Pioneros en el estudio genético sobre el origen del maíz.	17
Figura 6: Nueva expedición en la cueva San Marcos en el Valle de Tehuacán.	20
Figura 7: Expediciones originales en la cueva San Marcos.	23
Figura 8: Espécimen de raíz proveniente de la cueva San Marcos.	24
Figura 9: Arquitectura y anatomía de la raíz de maíz.....	26
Figura 10: Diferencias de la arquitectura y la anatomía radicular en poblaciones de maíz y teocintle.	28
Figura 11: Esquema con los componentes para calcular el ángulo de la raíz.	33
Figura 12: Especímenes de raíces antiguas de maíz utilizados en este estudio.....	38
Figura 13: Ausencia de raíces seminales en el nodo escutelar del espécimen D.	40
Figura 14: Anatomía celular interna de raíces antiguas..	45
Figura 15: Comparación de la anatomía y arquitectura de la raíz de maíz, teocintle actual y especímenes antiguos..	49
Figura 16: Predicción del peso seco producido a los 40 días con base en modelización de la estructura radicular de 61 teocintles, 195 razas de maíz, 2 líneas endogámicas y cinco réplicas del espécimen A y el espécimen D (5280 a 4956 BP, San Marcos)..	51
Figura 17: Topologías de tipo filogenético generadas por Método UPGMA, Método de Neighbor-Joining y Método de evolución mínima.....	52
Figura 18: Topología de tipo filogenético utilizando el método de máxima verosimilitud .	53
Figura 19: Comparación de las raíces reportadas por MacNeish con las utilizadas en este estudio.....	58

Índice de Tablas

Tabla 1: Toneladas y costo de maíz importado por México en la década 2006 a 2016.	11
Tabla 2: Rasgos de arquitectura radicular de las muestras antiguas A a N.	42
Tabla 3: Rasgos de anatomía radicular de las muestras antiguas	46

Resumen.

El maíz (*Zea mays* ssp. *mays*) es originario del centro-sur de México y divergió de su ancestro teocintle *parviglumis* (*Zea mays* ssp. *parviglumis*) hace cerca de 9,000 años. Se han estudiado ampliamente los rasgos fenotípicos que distinguen a los órganos aéreos del maíz y del teocintle *parviglumis*; sin embargo, poco se sabe sobre los cambios fenotípicos que pudo haber sufrido la raíz durante el proceso de domesticación. Las raíces actuales del maíz y del teocintle difieren en características arquitectónicas y anatómicas sutiles, tales como el número de raíces seminales (mayor en maíz), y el área total de xilema en cortes transversales (mayor en maíz; Burton *et al.*, 2013). En este estudio caracterizamos la arquitectura y anatomía radicular de 13 especímenes arqueobotánicos de maíz - provenientes del Valle de Tehuacán - cuya antigüedad oscila entre 5,305 y 1,412 años antes del presente (BP). Determinamos los rasgos anatómicos del espécimen A proveniente de la cueva de San Marcos (5,280 a 4,970 BP) utilizando tomografía de ablación laser para generar una reconstrucción tridimensional de alta resolución a partir del segmento transversal de una raíz coronaria correspondiente al segundo nodo. Los resultados obtenidos permitieron constatar el alto grado de preservación del contorno celular, pudiendo identificar y medir parámetros morfométricos relacionados con epidermis, córtex, endodermis, periciclo, floema y xilema. La estimación del área total de xilema se ubica en los rangos propios de las poblaciones de teocintle *parviglumis* actual, pero también dentro de los rangos de las razas actuales. En cuanto a la arquitectura, el diámetro del tallo basal asociado a la raíces de 5,280 a 4,956 BP es propio del rango de los teocintles y no del maíz. La mayoría de los especímenes estaban desprovistos del nodo escutelar a partir del cual emergen las raíces seminales durante las etapas tempranas del desarrollo de la plántula. La excepción fue el espécimen D proveniente de la cueva de San Marcos (5,280 a 4,956 BP), mismo que presentó el nodo escutelar y la raíz primaria sin evidencias de deterioro. De manera interesante, observaciones estereomicroscópicas de alta resolución permitieron constatar que el espécimen D no presenta rastro de raíces seminales emergiendo a partir del nodo escutelar, lo que constituye un rasgo únicamente presente en los teocintles actuales. Con base en el número de raíces seminales y coronarias, simulaciones *in silico* de la capacidad de absorción de nutrientes mostraron que el comportamiento fisiológico de la raíz del maíz de Tehuacán (5,280 a 4,956 BP) era más similar al teocintle que al maíz actual. Concluimos que algunos de los rasgos radiculares más importantes obtenidos por el maíz durante su domesticación fueron de selección tardía - posterior a los 5,280 BP - , probablemente de forma indirecta cuando se buscaba mayor productividad. Este estudio representa la primera contribución al entendimiento del impacto de la domesticación en la raíz de maíz utilizando raíces antiguas provenientes de excavaciones arqueológicas realizadas en el territorio nacional.

Abstract.

Corn or maize (*Zea mays* ssp. *mays*) has its origin in Central-Southern Mexico, diverging from its wild ancestor teosinte *parviglumis* (*Zea mays* ssp. *parviglumis*) about 9,000 years ago. While phenotypic traits distinguishing the aerial organs of maize and teosinte *parviglumis* have been extensively analyzed, little is known about changes affecting root architecture and anatomy during the domestication process. Extant roots of maize landraces and teosinte *parviglumis* differ in subtle architectural and anatomical traits, such as the number of seminal roots (higher in maize) and the total area of xylem in cross sections of crown roots (marginally higher in maize; Burton *et al.*, 2013). We present a detailed characterization of 13 archaeobotanical specimens of maize found in rockshelters of the Tehuacan valley, and dating between 5,305 and 1,412 years before present (BP). To determine the anatomical characteristics of specimen A found in San Marcos cave (5,280 to 4,970 BP), we used laser ablation tomography to generate a transversal high-resolution three-dimensional reconstruction of a crown root emerging from the second whorl. Our results show a high degree of preservation in most of the cell contours and their volume, allowing unambiguous identification and measurement of the epidermis, cortex, endodermis, pericycle, phloem, and xylem. The ancient maize value of total xylem area falls within the range of extant teosinte *parviglumis* but also maize landraces. By contrast, the stem diameter of 5,280 to 4,956 BP roots is within the range of extant teosinte and not maize landraces. Most of the specimens were lacking the scutellar node from which the seminal roots emerge during early stages of seedling development. The exception was specimen D from San Marcos cave (5,280 to 4,956 BP), in which the scutellar node and the primary root do not show evidence of damage. We conducted high-resolution stereo-microscopic observations and determined that specimen D does not show remnants of seminal roots emerging from the scutellar node. The absence of seminal roots is a trait only present in extant teosinte and not maize landraces. Based on the number of seminal and crown roots, *in silico* simulations of nutrient absorption showed that the physiological behavior of the Tehuacan maize root dating 5,280 to 4,956 BP was more similar to extant teosinte than to maize landraces. Our results suggest that some of the most important maize root traits were artificially selected at late stages of domestication (after 5,280 BP). Selection was probably indirect as part of efforts looking to increase maize productivity. Our study represents the first analysis of the impact of domestication on maize roots using ancient specimens from Mexico.

1 INTRODUCCIÓN.

1.1 Las gramíneas y su importancia agronómica.

1.1.1 Las Poáceas.

La familia de las Poáceas (*Poaceae*; también llamadas gramíneas o pastos) es un conjunto de plantas monocotiledoneas compuesto de aproximadamente 12,100 especies descritas distribuidas en 820 géneros. Se considera que provienen de un ancestro común existente hace cerca de 70 – 55 millones de años antes del presente (BP). Actualmente existen más de 10,000 especies de pastos que se distribuyen por todos los continentes (Kellogg, 2013). Las poáceas son una de las familias de plantas más importantes desde la perspectiva humana debido a su gran diversidad, valor alimenticio, económico y cultural. Entre las más conocidas se encuentran la caña de azúcar, el trigo, el arroz, el maíz, el sorgo, la cebada, la avena, el centeno y el bambú.

Las partes vegetativas de las poáceas están constituidas por la raíz, el tallo y las hojas, que son los órganos necesarios para su nutrición, crecimiento y desarrollo (Davila *et al.*, 1993). Pueden ser perennes o anuales; por lo general son terrestres y erectas (Campbell, 2016). El sistema radicular consiste en una raíz primaria y un sistema radicular fibroso. El tallo generalmente se conoce como culmo y está formado por nudos y entrenudos. En los primeros se originan las hojas y por lo tanto los entrenudos representan la parte del tallo que separa a un nudo del siguiente. Las hojas se disponen alternadamente en cada nudo del tallo y están formadas por la lámina y la vaina. Además, pueden presentarse otras estructuras de origen foliar como aurículas, lígula y collar (Davila *et al.*, 1993).

1.1.1.1 Diversidad.

Las poáceas se ubican en el tercer lugar en diversidad de géneros en el mundo después de las compuestas y las orquídeas, y el quinto lugar en número de especies después de las compuestas, las orquídeas, las leguminosas y las rubiaceas. En México se conocen 11 subfamilias, 205 géneros, 1,216 especies (1,062 nativas y 154 introducidas) y 207 categorías infraespecíficas (Davila *et al.*, 1993, Arshad *et al.*, 2010).

Entre las poáceas mexicanas destacan 10 géneros: *Muhlenbergia*, *Paspalum*, *Bouteloua*, *Panicum*, *Eragrostis*, *Sporobolus*, *Aristida*, *Digitaria*, *Festuca* y *Setaria*) que representan cerca del 42 % del total de especies existentes en el país (Davila *et al.*, 2018).

1.1.1.2 Poáceas como fuente de alimento.

Las poáceas, además de tener una gran diversidad, jugaron un papel fundamental en la transición del humano de un estado de cazador recolector al sedentarismo, ya que las grandes civilizaciones se formaron y evolucionaron en forma paralela al descubrimiento y evolución de algunas especies cultivadas de esta familia (Merril, 1936; Gepts *et al.*, 2012). A inicios del Antropoceno, el hombre gradualmente aprendió cómo controlar las fuentes de alimento en las áreas donde vivía; protegía a animales de interés de sus enemigos naturales e incrementaba las poblaciones de pastos específicos a través de su propagación, dando lugar al inicio de la domesticación de animales y plantas (DeWet, 1981).

En la Figura 1 se muestra el origen geográfico de las principales gramíneas domesticadas. El centro de origen del trigo y cebada es en el centro-oeste de Asia y este del mediterráneo; el del centeno es originario del oeste de Asia; la avena es del norte de Europa; el arroz es del sur de Asia; el sorgo y el mijo perla son los principales cereales de la sabana africana y el maíz fue domesticado en Mesoamérica (Khoury, 2016, Gepts, 2004, DeWet, 1981). Adicionalmente, Nueva Guinea comenzó a utilizar la caña de azúcar y las civilizaciones de Asia y Medio Oriente basaron su subsistencia y desarrollo en cultivos de sorgo, cebada, avena y arroz. Europa solidificó su desarrollo en el cultivo de trigo y en Mesoamérica el maíz jugó un papel primordial para el establecimiento civilizatorio de las culturas precolombinas (Davila *et al.*, 1993).

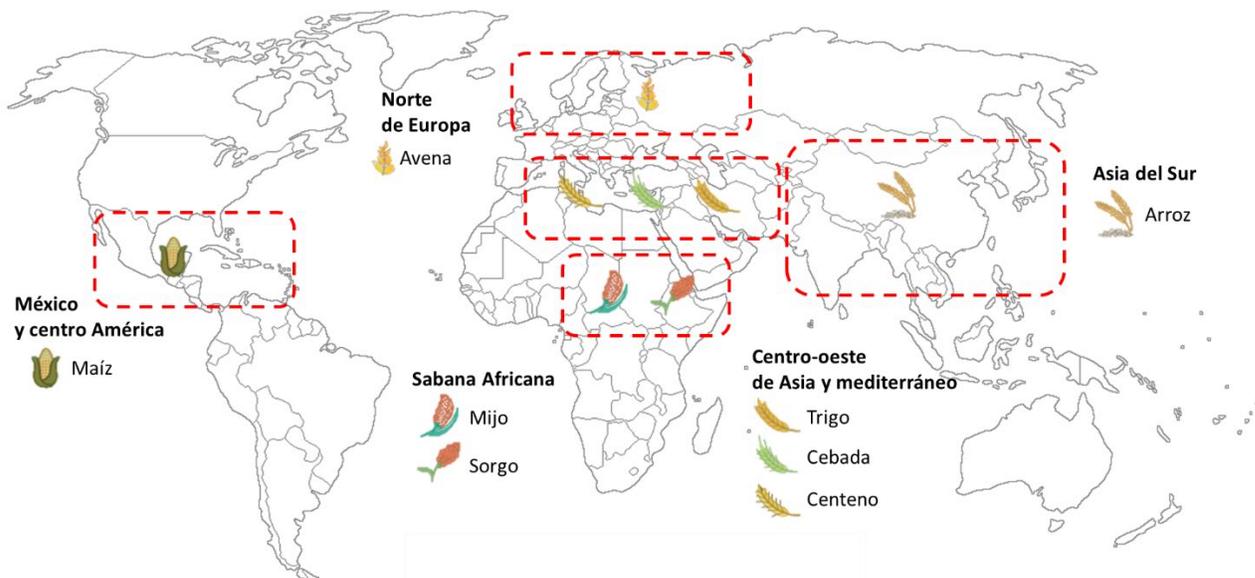
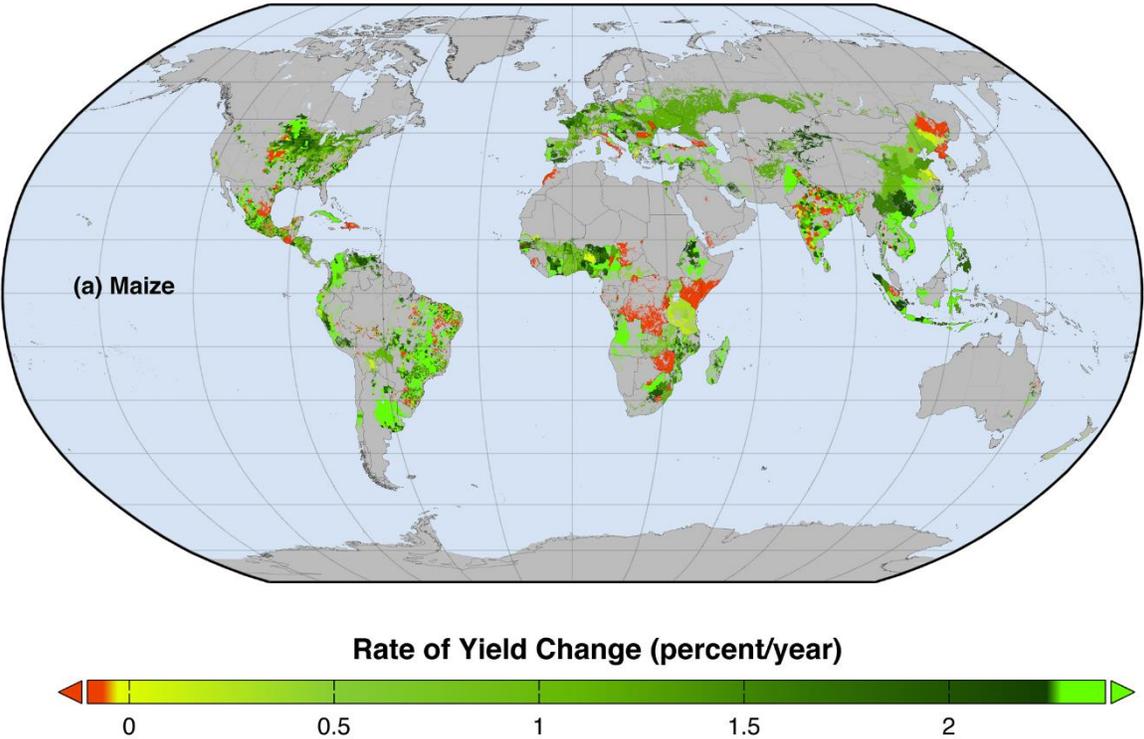


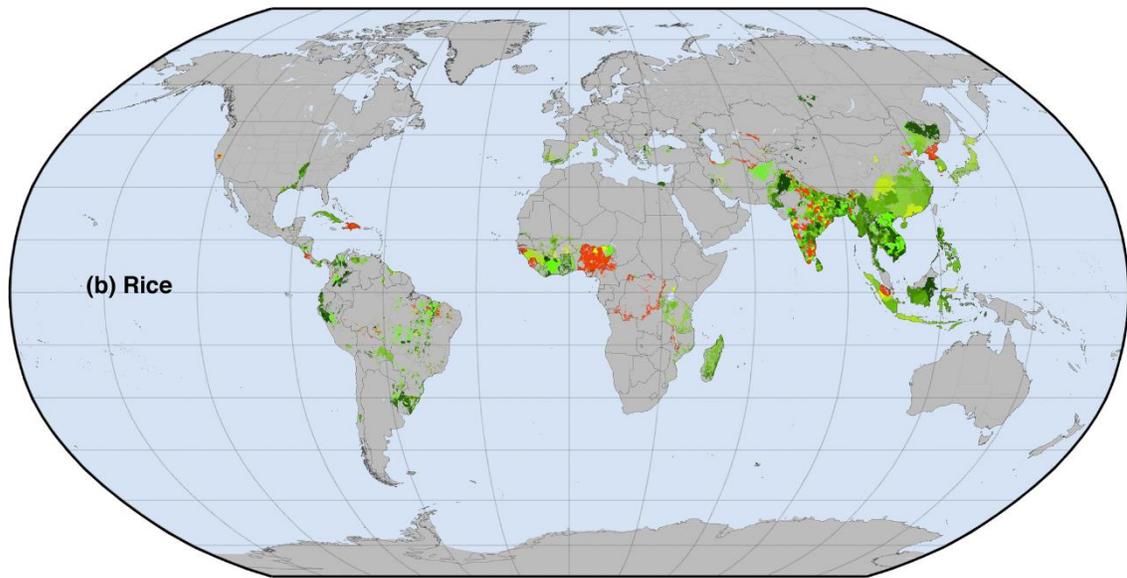
Figura 1: Regiones de origen y diversidad de las principales gramíneas. Modificado de Khoury, 2016.

La importancia económica y social de los pastos depende de su rol como fuente de alimento. Hasta el 70% del suelo destinado para agricultura en el mundo es utilizado para cultivo de gramíneas. Mas del 50% de las calorías consumidas proviene de las gramíneas (Campbell, 2016). Actualmente muchos científicos han sugerido que se deberá duplicar la producción de alimentos para abastecer a la población proyectada para el año 2050. Para cumplir esta meta, cada año se debe incrementar la producción un 2.4% respecto al anterior en las principales gramíneas (maíz, arroz y trigo) (Tilman *et al.*, 2011).

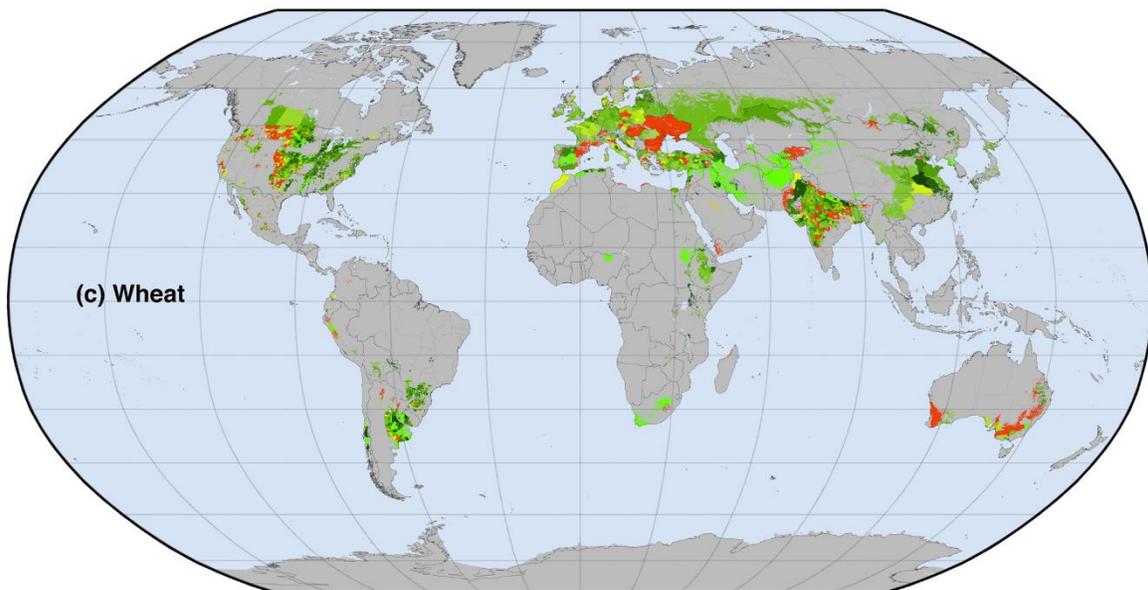
Desde 1961 a 2008, las tasas de incremento para la producción global de maíz, arroz y trigo fueron de 1.6%, 1.0% y 0.9% respectivamente. Estas tasas son distintas en diferentes regiones del mundo (Figura 2). Por ejemplo, las tasas de producción de arroz solo se han incrementado en regiones de Centro y Norteamérica. Es en los Estados Unidos de Norteamérica (EE. UU.) donde se obtienen las mejores tasas de incremento anual en la producción (1.2%). México tiene una tasa de incremento anual del 1.1%. Sin embargo, en Nicaragua y Panamá, donde el arroz provee ~16% y ~24% de la energía dietética humana, la cosecha per cápita podría reducirse debido al crecimiento poblacional que supera su tasa de incremento de producción anual (0.9% y 0.2% respectivamente). Por otro lado, en República Dominicana, Costa Rica y Haití, donde el arroz provee del 16-22% de la energía en la dieta diaria, las tasas de incremento anual en producción están cayendo de -0.1% a -0.6%. Este mismo fenómeno

ocurre para maíz y trigo en diferentes partes del mundo (Figura 2). Las tasas de incremento en la producción al año están lejos del necesario para abastecer la alimentación de la población para el año 2050 y claramente los países con tasas menores se verán fuertemente afectados en los próximos años (Ray *et al.*, 2013).





Rate of Yield Change (percent/year)



Rate of Yield Change (percent/year)



Figura 2: Tasa de cambio en la producción mundial por año para a) maíz b) arroz y c) trigo. Modificado de Ray, D. *et al.*, (2013).

Finalmente, de forma general, las gramíneas también son importantes para la industria pecuaria, ya que la mayoría de los animales domésticos se alimenta de ellas. Industrialmente se utilizan las semillas para la extracción de almidón, dextrina o harinas, además de la obtención de azúcar a partir de la caña de azúcar. También se fermentan los granos y se obtienen bebidas alcohólicas como cerveza, whisky o ron. Las gramíneas junto con otras plantas juegan un papel esencial en la formación y conservación de los suelos. También cumplen con una función ecológica importante como alimento y/o refugio para una gran variedad de animales silvestres (Davila, 1993).

1.1.2 El maíz.

1.1.2.1 Descripción botánica.

El maíz (*Zea mays* ssp. *mays*) pertenece a la familia de las gramíneas (poáceas). Es una planta anual alta con un sistema radicular fibroso. En su etapa adulta el maíz tiene un tallo no ramificado dividido en nodos (Doebley, 2004). Al ser una especie monoica, posee inflorescencias femeninas (jilote) y masculinas (panoja) separadas, lo que no es propio de la mayoría de las poáceas, que son dioicas, con inflorescencias hermafroditas. La panoja está compuesta por un eje central que se constituye como prolongación del tallo, del cual pueden emerger varias espigas laterales y una principal en la parte superior. A su vez, estas espigas alojan a varias espiguillas que contienen un par de flores con tres estambres largamente filamentosos en donde se produce el polen. Por otra parte, el jilote se compone de un eje central, grueso y cilíndrico (olote). Está envuelto por un conjunto de estructuras que se denominan brácteas, comúnmente conocidas como “hojas”. Al conjunto que forman el jilote y las brácteas se le conoce coloquialmente como mazorca. Las estructuras que comúnmente se denominan “pelos de elote” son los estilos, por los cuales penetra el tubo polínico, después de la germinación del polen que las panojas diseminan para efectuar la fecundación (Fitochapingo, 2009).

Las mazorcas de maíz desarrollan de 300 a 1000 granos, distribuidos en un número variable de hileras (8 a 16) y con un peso aproximado de 190 a 300 gramos. El grano representa cerca del 42% del peso seco de la planta. La coloración de los granos también es muy diversa, comúnmente el grano de maíz es blanco o amarillo, pero también existen negros, rojos,

verdes y una mezcla de colores que se determinan por las diferencias en los compuestos químicos presentes en las semillas (FAO, 1992).

1.1.2.2 El maíz como fuente de alimento.

El maíz es el cereal más producido en el mundo, con una producción que rebasa las 1,100 millones de toneladas anuales producidas en 2019, según estimaciones de la FAO (nota informativa de la FAO; 05/09/19; 767 millones de trigo; 517 millones de arroz). Provee nutrientes para humanos y animales, y sirve como materia prima para la producción de almidón, aceite, proteína, bebidas alcohólicas, endulzantes de alimentos y combustibles (FAO, 1992). Como fuente de alimento, el maíz contiene aproximadamente 72% de almidón, 10% de proteína y 4% de grasa y suple una densidad energética de 365 Kcal por cada 100 gr (Fernandez *et al.*, 2013). Como se mencionó en los párrafos anteriores, sería necesario incrementar un 2.4% la producción anual para alcanzar los niveles de producción necesarios para abastecer a la población creciente del 2050.

En Estados Unidos, la producción de maíz en Dakota del Norte, el noreste de Dakota del Sur y en Minnesota, alcanzó una tasa de incremento al año de 2.4%. Estos valores se alcanzaron también en México, en estados como Chihuahua, Sinaloa, Michoacán y Guanajuato. Sin embargo, en regiones de Estados Unidos como el sur de Dakota del Sur, Kansas, el este de Colorado y de México como el estado de San Luis Potosí, el norte de Durango, el sureste de Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas, las tasas de producción al año están decreciendo. En Centroamérica, países como Honduras y Nicaragua, donde el maíz provee cerca del 27% y 25% de la energía dietética cotidiana respectivamente, la tasa de incremento anual es de 0.5%. Y en Guatemala, donde el maíz provee el 36% de la energía diaria, las tasas de producción decrecen y alcanzan valores negativos de -0.7% al año (Ray *et al.*, 2013).

Según datos obtenidos de FAOSTAT, los países que produjeron más maíz entre 2011 y 2017 fueron Estados Unidos, China, Brasil, Argentina, India y México (Figura 3A). Solo en el 2017 la producción de cada país fue de 370,960,390 t, 259,071,000 t, 97,721,860 t, 49,475,895 t, 28,720,000 t y 27,762,481 t respectivamente. Mientras que el área de cosecha de dicha producción fue de 33,469,080 ha, 42,399,000 ha, 17,393,563 ha, 6,530,673 ha, 9,219,000 h y 7,327,501 ha para Estados Unidos, China, Brasil, Argentina, India y México respectivamente (Figura 3B).

Si se compara la producción y área de cosecha de México con la de los principales países productores, se determina que Estados Unidos tiene 13.3 veces más producción y 4.5 veces mayor área de cosecha; China 9.3 veces más producción y 5.78 veces mayor área de cosecha; Brasil 3.5 veces más producción y 2.3 veces mayor área de cosecha; Argentina 1.7 veces más producción y 0.87 veces mayor área de cosecha; y la India 1.03 veces más producción y 1.25 veces mayor área de cosecha. En todos los casos excepto la India, los rendimientos promedio por hectárea son muy superiores, y es notable que en Argentina la producción sea casi dos veces mayor a la de México, a pesar de que el área de cosecha sea menor (Figura 3). Esto sugiere que el agro mexicano no está aprovechando el espacio destinado a cultivo de maíz en comparación con sus principales competidores a nivel mundial.

Al no producir suficiente maíz, México se ha visto en la necesidad de importarlo para abastecer la demanda de la población. Del 2011 al 2016 México importó cerca del 50% del total de la producción nacional (Tabla 1). En el 2016 se produjeron 28,250,783 toneladas de grano; sin embargo, fue necesario importar 14,105,991 toneladas que representan 49.93% de la producción de ese año e implicaron un gasto de \$2,689,945 dólares. De 2006 a 2010, el porcentaje de maíz importado osciló entre 33 y 37%, en el 2011 se elevó hasta 53.73%; más recientemente - 2015 y 2016 - fue de 49.18% y 49.93% respectivamente (Tabla 1). Estos datos muestran una tendencia al incremento de la importación de grano. México tiende a depender de las importaciones de maíz, mientras que otros países como Argentina nos superan en producción. Un caso especial es el de China, que en 2015 incrementó el área destinada al cultivo, así como su producción (Figura 3).

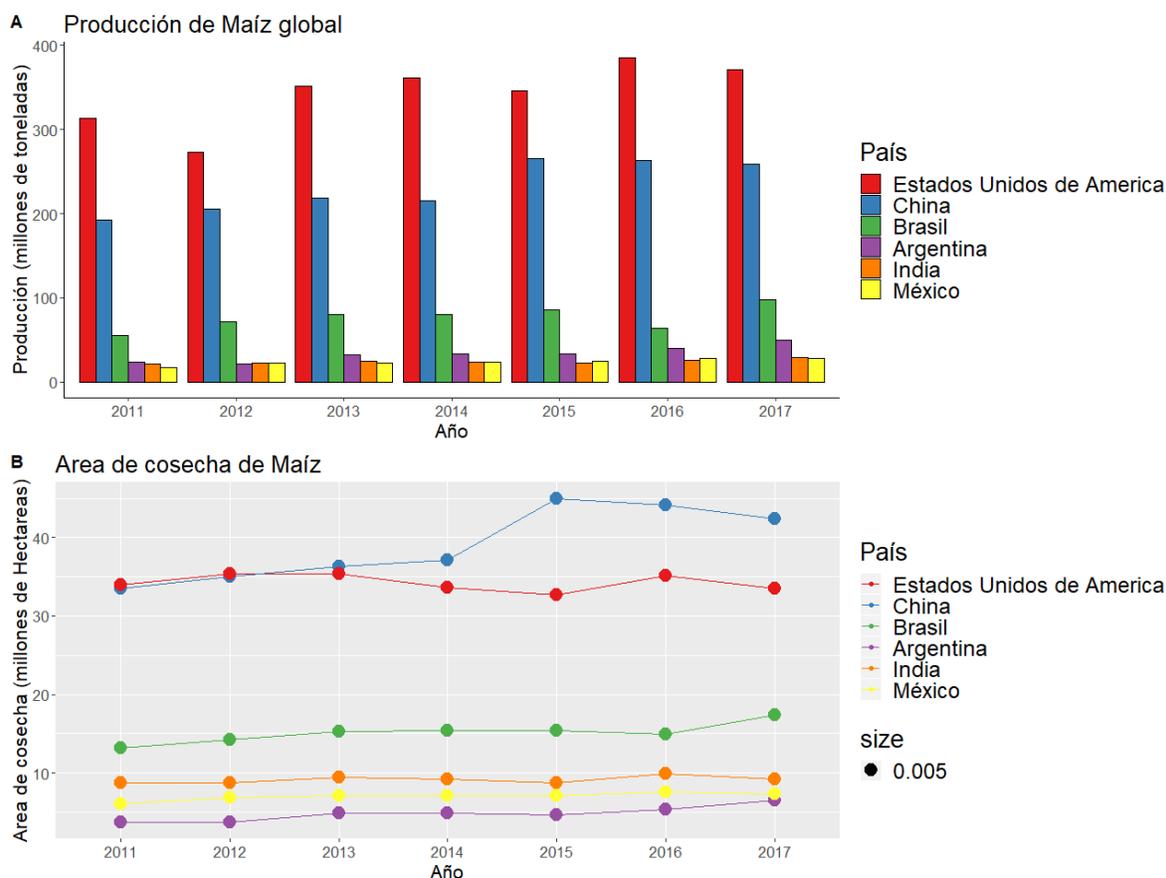


Figura 3: Producción mundial de maíz A) Producción de los principales países productores de maíz en el periodo 2011 a 2017. B) Área de cosecha de maíz en el periodo 2011 a 2017. Datos obtenidos de FAOSTAT.

Tabla 1: Toneladas y costo de maíz importado por México en la década 2006 a 2016. Datos obtenidos de FAOSTAT.

Año	Costo de Importación US\$	Toneladas importadas	Toneladas producidas	Porcentaje importación respecto a lo producido
2006	1,138,368	7,609,940	21,893,209	34.76 %
2007	1,554,320	7,954,729	23,512,752	33.83 %
2008	2,391,399	9,145,987	24,320,100	37.61 %
2009	1,436,754	7,260,619	20,142,816	36.05 %
2010	1,583,297	7,848,998	23,301,879	33.68 %
2011	2,989,322	9,476,171	17,635,417	53.73 %
2012	2,996,571	9,515,074	22,069,254	43.11 %
2013	2,053,004	7,153,033	22,663,953	31.56 %

2014	2,395,335	10,407,011	23,273,257	44.72 %
2015	2,458,760	12,145,301	24,694,046	49.18 %
2016	2,689,945	14,105,991	28,250,783	49.93 %

1.1.2.3 Diversidad del maíz.

Un estudio filogenético extenso utilizando marcadores moleculares en las razas de maíz y sus parientes silvestres indicó que el maíz divergió del teocintle *parviglumis* a partir de un evento único que ocurrió en la cuenca del río Balsas, hace aproximadamente 9000 años (Matsuoka *et al.*, 2002). La domesticación subsecuente resultó en un grupo de variedades ancestrales que fueron dispersadas hacia el resto del continente americano donde se establecían los cultivos y tenían que adaptarse a condiciones ecológicas y geográficas distintas (Vielle-Calzada *et al.*, 2009a). La adaptación de estas variedades en cada región de América es la fuente de la gran diversidad de maíz que existe actualmente. Se han distinguido al menos 59 razas de maíz mexicanas con base en sus características bioquímicas y morfológicas. La diversidad de maíz esta capturada *ex situ* en distintos bancos de germoplasma, entre los más importantes están el Centro de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) y el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP) que albergan en conjunto cerca de 11,000 muestras y representan las colecciones de diversidad de maíz más importantes. Estas colecciones han sido duplicadas en el *National Seed Storage Laboratory* (USDA-NSSL) en Colorado. Existen también colecciones relativamente pequeñas en la Universidad Autónoma de Chapingo y el Colegio de Posgraduados, albergando 2,500 y 4,000 muestras respectivamente (Vielle-Calzada *et al.*, 2009a).

Una de las maneras más importantes de conservar la diversidad del maíz es *in situ*, en manos de los campesinos quienes cultivan una gran diversidad de razas. Esto es importante, ya que las razas de maíz en poder de los agricultores continúan evolucionando, elevando su rendimiento y en ocasiones su resistencia a factores adversos, ganando especialización para diferentes hábitats agrícolas y para usos especiales ajenos al agro, cosa que no sucede con las muestras conservadas en los bancos de germoplasma (Ortega, 2003). Las razas de maíz se distinguen por su adaptación a múltiples condiciones ambientales, han mostrado resistencia a enfermedades y plagas, tolerancia a sequías, temperaturas extremas y deficiencias de

algunos nutrientes. Debido a esto, siguen siendo importantes para los programas de mejoramiento. A pesar de los esfuerzos por conservarla, esta diversidad es vulnerable debido a la erosión genética. En este contexto, el término de erosión genética se refiere a la pérdida de las poblaciones nativas debido a cambios externos como la adopción de híbridos o cambio de uso de suelo. Esto ocurre en México debido a nuestra integración a la economía global, en específico a través del Tratado de Libre Comercio de América del Norte (TLCAN), lo que ha propiciado el monocultivo a través de la especialización de los campesinos a variedades de maíz de alto rendimiento. La erosión genética también ocurre debido a que el gobierno mexicano desmotiva la producción de razas, subsidiando únicamente la producción de maíz blanco (Vielle-Calzada *et al.*, 2009a). Un buen ejemplo del impacto de la política agrícola mexicana en la erosión genética del maíz fue el programa Procampo (actualmente programa de apoyo a pequeños productores), que estaba diseñado para compensar las pérdidas provocadas por el libre comercio y sus apoyos cubrían la diferencia entre el precio nacional del maíz y el precio internacional. Este tipo de subsidios tenía un sesgo que favorecía a los agricultores con más terreno, quienes producen en su mayoría variedades productivas de maíz. Por otro lado, los pequeños agricultores, promovedores de la siembra de razas de maíz, se veían marginados por este tipo de programas, poniendo en peligro la diversidad de maíz *in situ* (Fox *et al.*, 2010). En general, el monto por hectárea asignado a los productores que cuentan con menos de 5 ha era ligeramente mayor con el objetivo de favorecer a los agricultores más pobres; sin embargo, según dos encuestas nacionales, la mayoría de los agricultores con menos de 5 ha eran excluidos del programa, y la compensación otorgada a los campesinos fue menor que la reducción del valor del grano debido a las importaciones (Fox *et al.*, 2010).

1.1.2.4 Importancia cultural del maíz.

El maíz también jugó un papel fundamental en el establecimiento de las civilizaciones más importantes de Mesoamérica. Evidencias arqueológicas indican que las civilizaciones Olmeca, Maya y Mexica dependieron del maíz como base de su alimentación (Costich *et al.*, 2016). Estas culturas reconocían la importancia del maíz como fuente de alimento mediante la creación de historias que se transmitían de generación en generación y que actualmente nos permiten aproximar la cosmovisión de estos pueblos.

Por ejemplo, existe una historia maya en el *Popol Vuh* que relata el origen del hombre. Inicialmente, los dioses poblaron el mundo con las criaturas del cielo y de la tierra. Cuando pidieron a las criaturas que los alabaran invocando sus nombres, solo recibieron gruñidos y graznidos. Los dioses decidieron crear criaturas mejores, entonces tomaron tierra e intentaron crear al hombre, pero estos individuos se deshacían, carecían de fuerza y movimiento, eran incapaces de reproducirse y aunque hablaban, carecían de entendimiento. En un segundo intento, los dioses utilizaron madera como materia prima para crear al hombre. Estos nuevos seres eran capaces de moverse, hablar y reproducirse; sin embargo, los destruyeron al percatarse que su carne carecía de sangre y sustancia, no tenían alma ni entendimiento, no se acordaban de sus creadores y andaban sin rumbo sobre la tierra. Finalmente, los dioses molieron granos de maíz y con la masa crearon al primer hombre y mujer, quienes pudieron reproducirse para llenar el mundo de seres que reconocen, alaban y alimentan con ofrendas a sus dioses (Lopez, 2003).

1.2 Origen del maíz: descripción de las evidencias citogenéticas, genéticas, genómicas y paleobotánicas.

1.2.1 Diferencias morfológicas entre maíz y teocintle.

Evidencias genéticas señalan que todas las poblaciones de maíz actual provienen del teocintle *parviglumis*, en particular de las poblaciones de la región del Balsas en México (Matsouka, 2002). A pesar de que el teocintle es el ancestro del maíz, sus diferencias fenotípicas son sorprendentes. Los teocintles tienen ramificaciones en su tallo, cada rama se divide en nodos y en cada uno se producen múltiples inflorescencias femeninas. Cada inflorescencia produce de 5 a 12 semillas que se organizan en dos hileras y se desarticulan fácilmente. Dichas semillas tienen una cubierta dura que las encapsula e impide su consumo (Figura 4a). Por otro lado, el maíz tiene un tallo a tendencia no ramificada que forma una inflorescencia por nodo, y que produce hasta 1,000 semillas distribuidas en múltiples filas (Figura 4b). Dichas semillas carecen de cubierta por lo que son suaves y están fuertemente unidas al olote lo que impide su dispersión natural (Doebley, J. 2004).

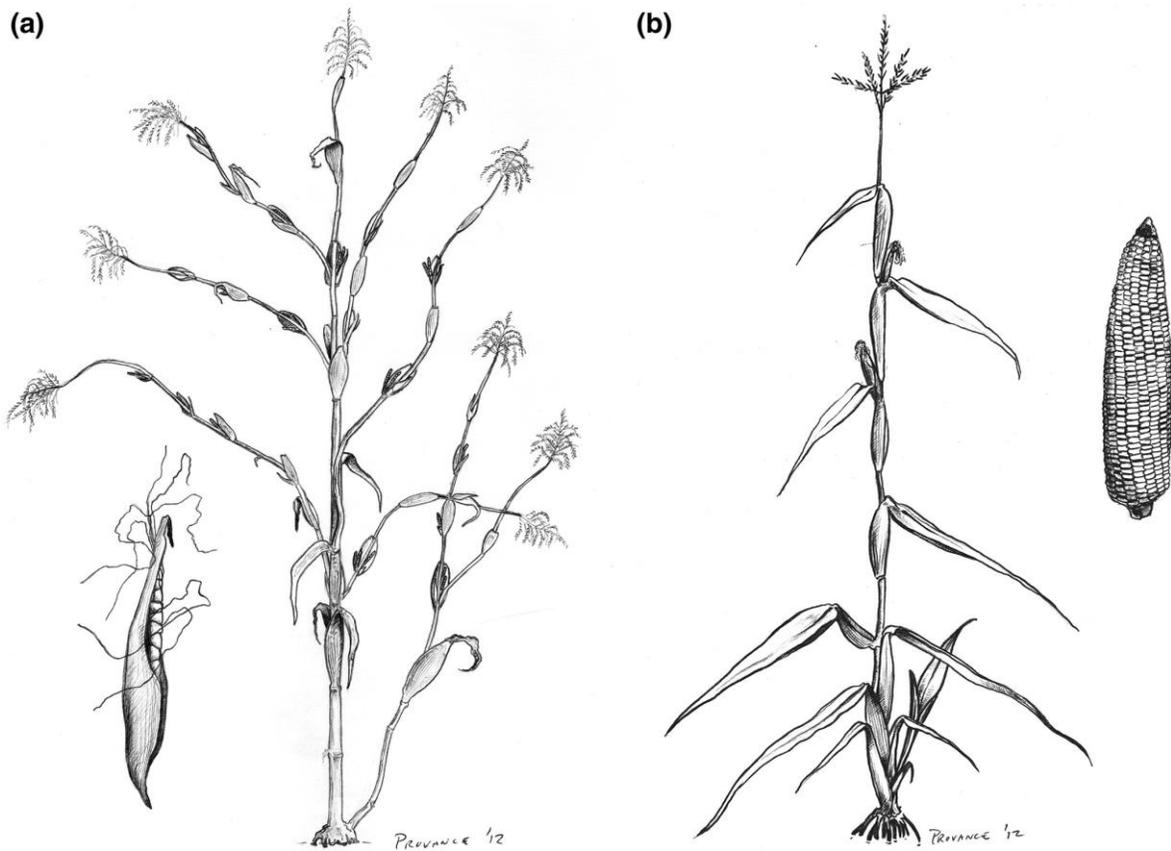


Figura 4: Representación de la arquitectura del tallo y la mazorca de a) un teocintle y b) un maíz. Tomado de Stützer *et al.*, (2018).

A simple vista es difícil creer que el teocintle es el pariente silvestre más cercano del maíz debido a su poca similitud fenotípica. Antes de que se confirmara que el teocintle era el ancestro del maíz, existían otras teorías que intentaban explicar su origen. Por ejemplo, Mangelsdorf hipotetizaba que el maíz provenía de un prototipo silvestre extinto en la actualidad y no consideraba que el maíz y el teocintle estuviesen íntimamente relacionados. Mangelsdorf pensaba que la relación tan cercana entre maíz y teocintle se debía a contaminaciones del género *Tripsacum* (Beadle, 1939). Sin embargo, durante el siglo pasado se han generado evidencias de distinta índole que han reforzado la hipótesis de que el teocintle *parviglumis* es el ancestro del maíz. Quizá la evidencia más contundente de la estrecha relación es el hecho de que es posible obtener descendencia fértil de la cruce de un maíz, tanto con teocintle *mexicana* (Doebley *et al.*, 1991) como con *parviglumis* (Doebley *et al.*, 1993). En cambio, cuando se hacen cruces con otros teocintles o con *Tripsacum*, no se produce una descendencia fértil (Wet *et al.*, 1978).

1.2.2 Evidencias citogenéticas.

Si existe una descendencia fértil en la cruce de teocintle con maíz, sería racional pensar que existen posibilidades de recombinación genética durante la meiosis, lo que nos lleva a las evidencias citogenéticas. El maíz y teocintle comparten el mismo número de cromosomas, morfología gruesa y la organización interna fina de cada cromosoma en la fase paquíteno de la meiosis (McClintock *et al.*, 1981). En 1981, Barbara McClintock y Ángel Kato (Figura 5B) compararon los nudos cromosómicos presentes en una población de teocintle mexicano anual (*parviglumis* o *mexicana*), un teocintle guatemalteco y el maíz. Se determinó que los nudos cromosómicos del teocintle mexicano anual y el maíz tenían posiciones equivalentes en posiciones intercaladas distintas a las del teocintle guatemalteco que presenta los nudos en regiones terminales. Estos resultados sugieren que el maíz proviene de una población de teocintle mexicano (McClintock *et al.*, 1981). Sin embargo, las evidencias citogenéticas no permiten distinguir entre nudos cromosómicos de teocintle *parviglumis* y *mexicana*, por lo que no es posible determinar cuál es el ancestro directo con base en estas aproximaciones.

1.2.3 Evidencias genéticas.

Por otra parte, George Beadle (Figura 5A), que apoyaba la hipótesis de que el teocintle es el ancestro del maíz, investigó cuantas eran las regiones cromosómicas (o los loci) que son las principales responsables de las diferencias fenotípicas mayores entre el teocintle y el maíz. Con apoyo de Edwin J. Wellhausen en CIMMYT, Beadle realizó cruces entre la raza *Chapalote* y el teocintle *Chalco*, auto-polinizando la progenie F1 resultante y analizando fenotípicamente una población de 50,000 individuos de la generación F2. Beadle utilizó la genética mendeliana en donde asumió que, si un gen era responsable de las diferencias entre teocintle y maíz se obtendría una frecuencia del fenotipo de los progenitores de $\frac{1}{4}$, si fueran dos genes $\frac{1}{16}$, tres genes $\frac{1}{64}$, cuatro genes $\frac{1}{256}$ y cinco genes $\frac{1}{1024}$. La frecuencia que obtuvo de individuos con características de los progenitores fue de $\frac{1}{500}$, por lo que sugirió que eran 4 o 5 regiones genómicas las que están principalmente involucradas en las diferencias fenotípicas que distinguen al maíz del teocintle (Beadle, 1972).

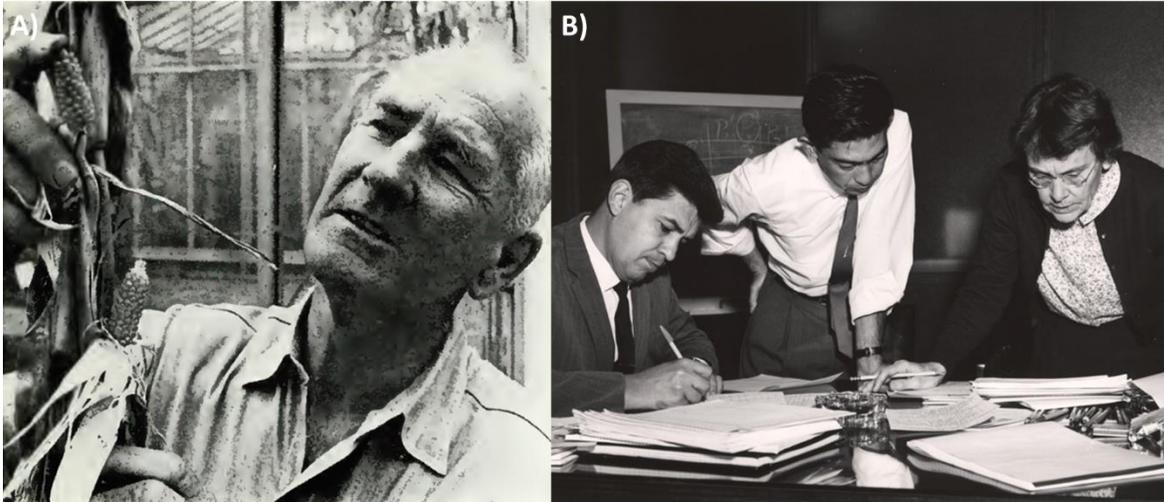


Figura 5: Pioneros en el estudio genético sobre el origen del maíz. A) George Beadle examinando una mazorca primitiva resultado de la cruce de maíz y teocintle. Tomado de Beadle, 1972. B) De izquierda a derecha, Almiro Blumenschein, Ángel Kato y Barbara McClintock. Tomado de The National Library of Medicine Profiles in Science.

Posteriormente, el grupo de investigación encabezado por John Doebley realizó un rastreo por QTLs y encontró máximos de verosimilitud que corresponden a cuatro de las regiones sugeridas por Beadle (Doebley *et al.*, 1991; Doebley *et al.*, 1993). Actualmente se sabe que la domesticación del maíz es más compleja que solo 5 modificaciones en el genoma y que las diferencias entre teocintle y maíz son comúnmente oligogénicas, ya que existe epistasia y pleiotropía, y el contexto genético donde se encuentren los alelos determina parte de los efectos fenotípicos (Stitzer *et al.*, 2018).

Una de las regiones encontradas por Doebley fue el gen *teosinte branched 1 (tb1)* involucrado en el porte o arquitectura general de los tallos. Debido a la dominancia apical, el maíz tiene tendencia a formar un único tallo, mientras que el teocintle tiene ramificaciones. Este rasgo es útil en un contexto agrícola debido a que al no tener ramificaciones se puede incrementar la densidad de siembra y mayor aprovechamiento de la luz (Doebley *et al.*, 1995). Se evaluaron los transcritos del gen *tb1* en teocintle y maíz y se observó que los transcritos eran idénticos, pero que expresión de *tb1* es mayor en maíz que en teocintle, sugiriendo que durante el proceso de domesticación ocurrieron cambios en la regulación de *tb1* (Doebley *et al.*, 1995). Los alelos de *tb1* de maíz y teocintle solo difieren en los niveles de expresión del transcrito correspondiente, pero no reflejan una diferencia en la secuencia del gen, por lo que se postula que en el caso de *tb1*, el efecto fenotípico es provocado por cambios sutiles en la regulación de su expresión (Kellogg, 1997).

Un segundo gen importante para explicar las diferencias fenotípicas entre teocintle *parviglumis* y maíz es *teocintle glume architecture (tga1)* que controla parcialmente el desarrollo de la cápsula que recubre a la semilla de teocintle. La cubierta del grano está compuesta por el raquis y la espiguilla. En teocintle, los raquis están tan profundamente invaginados que la espiguilla madura (incluyendo a la semilla) embona dentro de esta invaginación. La espiguilla está compuesta por una flor femenina y una serie de brácteas que la envuelven. La última bráctea se denomina gluma externa, que se encarga de sellar la entrada de la cúpula. En maíz, el raquis y la cúpula están presentes, pero no forman una cubierta alrededor de la semilla, sino que la dejan expuesta, lo que facilita cosecharla y comerla (Dorweiler *et al.*, 2013).

Actualmente existen otros ejemplos de genes involucrados en la domesticación del maíz que modifican la arquitectura de algún órgano de la planta. Por ejemplo, el gen *ramosal (ral)* está involucrado en la arquitectura de espigas gemelas; el gen *zea floricaula leafy2 (zfl2)* es responsable de la formación de múltiples filas en la mazorca de maíz; los genes *ZmSh1-1*, *ZmSh1-5.1* y *ZmSh1-5.2* controlan la desarticulación del raquis para la dispersión de la semilla en teocintle; y el gen *grassy tillers1 (gt1)* está involucrado en establecer el número de mazorcas por nodo (Stitzer *et al.*, 2018).

Es importante resaltar que a nivel de raíz la identificación de los cambios en la arquitectura ocurridos durante la domesticación es pobre, al igual que la determinación de las bases genéticas y los mecanismos moleculares y que controlan dichos rasgos. A excepción del trabajo de Burton *et al.* (2013), no existen trabajos que hayan comparado la diversidad fenotípica de la raíz del teocintle y la del maíz.

1.2.3 Evidencias genómicas.

La búsqueda de posibles genes involucrados en el proceso de domesticación utilizando QTLs fue rebasada con el surgimiento de técnicas de secuenciación de ADN genómico. Estas técnicas han generado una inmensa cantidad de datos genómicos para poblaciones de *Zea*, y han permitido encontrar regiones genómicas importantes para el entendimiento de la domesticación.

Yamasaki partió de la premisa de que durante el proceso de domesticación y mejoramiento del maíz se seleccionaron alelos específicos de genes que controlan rasgos deseables para el

ser humano, resultando en una reducción de la diversidad nucleotídica (y por ende genética) con respecto a los alelos neutros que no fueron objeto de selección artificial (humana). Por consecuencia, es posible encontrar genes que fueron seleccionados durante la domesticación buscando una reducción en la diversidad nucleotídica entre poblaciones de teocintle y razas de maíz, incluso cuando no se tenga información previa sobre la función génica (Yamasaki, 2005).

Matthew Hufford utilizó esta misma premisa para realizar un estudio a gran escala donde midió la diversidad genética en todo el genoma de maíz, generando una lista de 484 regiones genómicas (por lo general cada una de varios cientos de Kbs) que posiblemente fueron blanco de domesticación (Hufford *et al.*, 2012). Utilizando un enfoque similar, Vielle-Calzada *et al.* (2009b) secuenciaron el genoma de la raza de maíz *Palomero Toluqueño* y compararon la diversidad nucleotídica con el genoma de referencia B73; a partir de ello, identificaron algunas regiones que contienen genes de respuesta a estrés abiótico y metales pesados que fueron sujetos a selección, sugiriendo que factores ambientales relacionados con los metales pesados en suelos ejercieron una presión selectiva durante el proceso de domesticación.

1.2.4 Evidencias paleobotánicas.

Para aprovechar técnicas modernas de paleogenómica aplicadas a especímenes intactos, dos expediciones realizadas en las cuevas de Coxcatlán (2012 y 2015), San Marcos (2012) y Purrón (2015) - ambas a cargo del Arqueólogo Ángel García Cook y del Dr. Jean-Philippe Vielle Calzada en el marco del acuerdo de colaboración entre INAH y Cinvestav -, permitieron descubrir una multitud de especímenes de maíz, algunos con más de 5,000 años de antigüedad (Vallebueno-Estrada *et al.*, 2016; Figura 6B). Estas mismas cuevas ya habían sido exploradas en 1960 por el arqueólogo Richard MacNeish, que reconoció el valle de Tehuacán como un sitio importante para el origen de la agricultura en Mesoamérica. Utilizando herramientas de ADN antiguo, Vallebueno-Estrada *et al.*, (2016) lograron obtener fracciones importantes del genoma de tres especímenes de maíz cuya edad oscilaba entre 5,300 y 5,000 años antes del presente (BP). Las topologías filogenéticas resultantes indican que dicho maíz estaba parcialmente domesticado. Cuando compararon la diversidad genética de regiones sujetas a selección artificial y que incluyen a los genes *tgal* y *tb1*, observaron que el valor de diversidad para *tb1* ya había disminuido a los niveles presentes en el maíz

actual, mientras que en el locus correspondiente a *tg1* aún contenía variantes nucleotídicas presentes en el teocintle del Balsas pero no en las razas de maíz, lo que indica que su proceso de depuración genética no había concluido (Vallebueno-Estrada *et al.*, 2016).



Figura 6: Nueva expedición en la cueva San Marcos en el Valle de Tehuacán. A) A la izquierda Miguel Vallebueno. Atrás con sombrero el arqueólogo Ángel García Cook. B) Espécimen de raíz de maíz semi-domesticado de 5300 años de antigüedad. Modificado de Vallebueno-Estrada *et al.*, 2016.

1.2.5 Rasgos de domesticación en la raíz de maíz.

Para comenzar a distinguir las raíces de teocintle y maíz, Burton *et al.*, (2013) caracterizaron fenotípicamente poblaciones de varias subespecies de teocintle y de varias razas de maíz. Su comparación incluyó estimaciones arquitectónicas como el diámetro del sistema radicular, el número de raíces coronarias y el diámetro del tallo. Estimaron también rasgos anatómicos tales como el área de raíces coronarias en cortes transversales, el área de la estela, del córtex, del aerénquima y del xilema, así como el número de hileras celulares del córtex y el número de células corticales. En general los rangos de distribución fueron similares para las poblaciones de teocintle y de maíz, a excepción del área del xilema y el número de raíces seminales (Burton *et al.*, 2013).

En 2005, Woll *et al.*, (2005) describieron la mutante *rootless with undetectable meristem1* (*rum1*) en maíz. Dicha mutante no inicia el desarrollo de raíces seminales ni raíces secundarias post-embriónicas debido al transporte deficiente de auxinas (Woll *et al.*, 2005). El gen *RUM1* codifica para una proteína del tipo AUX/IAA que es inducible por auxinas y se localiza probablemente en el núcleo (Behrens *et al.*, 2011). Por otra parte, Salvi *et al.*, (2016) realizaron un análisis comparativo de dos líneas de maíz, una con raíces seminales y

una con carencia de ellas, y encontraron 3 QTLs que explicaban cerca del 60% de la variación de ese rasgo. Un análisis preliminar del gen *RUMI* mostró que su coordenada genómica coincide con una región de domesticación (GRMZM2G031882) descrita por Hufford *et al.* (2012), lo que sugiere que este gen estuvo sujeto a selección. A pesar de que existen evidencias preliminares de que hubo una presión de selección en los rasgos de la raíz, se desconoce en qué punto del tiempo se incrementó el número de raíces seminales y qué implicaciones funcionales tiene este rasgo en el contexto de la domesticación.

Las evidencias paleobotánicas nos dan información sobre la ubicación geográfica, antigüedad y morfología de restos vegetales, lo que permite recrear cómo fue el proceso de dispersión del maíz por América y que características morfológicas tenían en cada etapa de su dispersión. Si consideramos que todos los maíces actuales tienen un mismo origen podemos suponer que aquellos rasgos que están presentes ubicuamente en todas las poblaciones de maíz debieron fijarse antes de su dispersión por el continente. Por ejemplo, si observamos que todos los maíces del mundo carecen de ramificaciones en el tallo, esperaríamos que ese rasgo se haya fijado en el sur de México antes de la dispersión del maíz por América. En cambio, si observamos otros rasgos como la pigmentación del grano puede que se deban a adaptación local posterior a la dispersión del maíz por el mundo. Así mismo, si existiera evidencia arqueológica de raíces de maíz de antigüedad y ubicación diversa, podríamos intentar elucidar cuando y donde se fijaron los rasgos de domesticación que afectaron el desarrollo y fisiología de las raíces de maíz.

1.3 Valle de Tehuacán y su importancia en el entendimiento del origen del maíz.

1.3.1 Expediciones de Richard MacNeish.

Richard MacNeish (1918-2001) fue un arqueólogo estadounidense que investigó el origen de la agricultura mesoamericana. Su curiosidad lo llevó a realizar una expedición por América en busca de los restos de plantas domesticadas más antiguas del continente (Figura 7A). MacNeish sabía que los restos de plantas deshidratadas se conservaban bien en cuevas de regiones secas debido a su experiencia previa en excavaciones en Tamaulipas. Su equipo interdisciplinario incluía al arqueólogo mexicano Ángel García Cook, y sospechaban que los restos más antiguos de maíz podrían encontrarse cerca del sur del valle de México, pero al

norte de Chiapas. Al mismo tiempo, su colega botánico Paul Mangelsdorf sugería que probablemente el ancestro del maíz era un pasto de tierras altas (MacNeish, 1967).

A principios de los años 1960s, bajo la supervisión de MacNeish se realizaron estudios de precipitación, clima, topografía y geología, con el objetivo de encontrar ubicaciones que respondieran a las condiciones de preservación adecuadas para restos botánicos. Se encontraron tres ubicaciones: el norte de Oaxaca, la región del río Balsas o la región Mescala (Guerrero), y el Valle de Tehuacán en el sureste de Puebla. Fue así como comenzó la cacería de cuevas por Tehuacán y el Norte de Oaxaca. Oaxaca era demasiado húmedo y tenía cuevas muy pequeñas. En cambio, en el valle de Tehuacán se encontraron 5 sitios, resquicios rocosos denominados Coxcatlán, Purrón, El Riego, San Marcos y Tecorrall que, debido a las condiciones áridas que prevalecen en el valle, tenían características adecuadas para la conservación de especímenes paleobotánicos (baja humedad, rápido drenado del suelo y la protección a las fluctuaciones de temperatura; MacNeish, 1967).

Con estos antecedentes se creó el Proyecto Arqueológico-botánico Tehuacán que recibió financiamiento de la Fundación Nacional para la Ciencia de los EE. UU. (NSF por sus siglas en inglés) y de la Fundación Rockefeller. La expedición arqueológica en las cinco cuevas fue llevada a cabo durante cuatro temporadas anuales, de 1961 a 1964. Este proyecto tenía como objetivo descubrir vestigios relacionados con el comienzo de la agricultura en el nuevo mundo y el concomitante surgimiento de una civilización autóctona. Fue pionero en su época, debido a que fue la primera expedición multidisciplinaria (botánica, zoología, geología y antropología) en el centro de América, logrando obtener cerca de 24,000 restos de maíz, incluyendo aproximadamente 12,000 olotes completos o fragmentados (Figura 7B y 7C), así como 282 hojas, 506 tallos y 46 raíces (Figura 7D; MacNeish, 1967). Si bien las dataciones originales no tenían el grado de precisión de los métodos actuales basados en espectrometría de masas acoplada a un acelerador de partículas (AMS, por sus siglas en inglés), las dataciones recientes indican que los restos más antiguos de maíz tienen aproximadamente 5,300 años de antigüedad (Vallebuena-Estrada *et al.*, 2016).

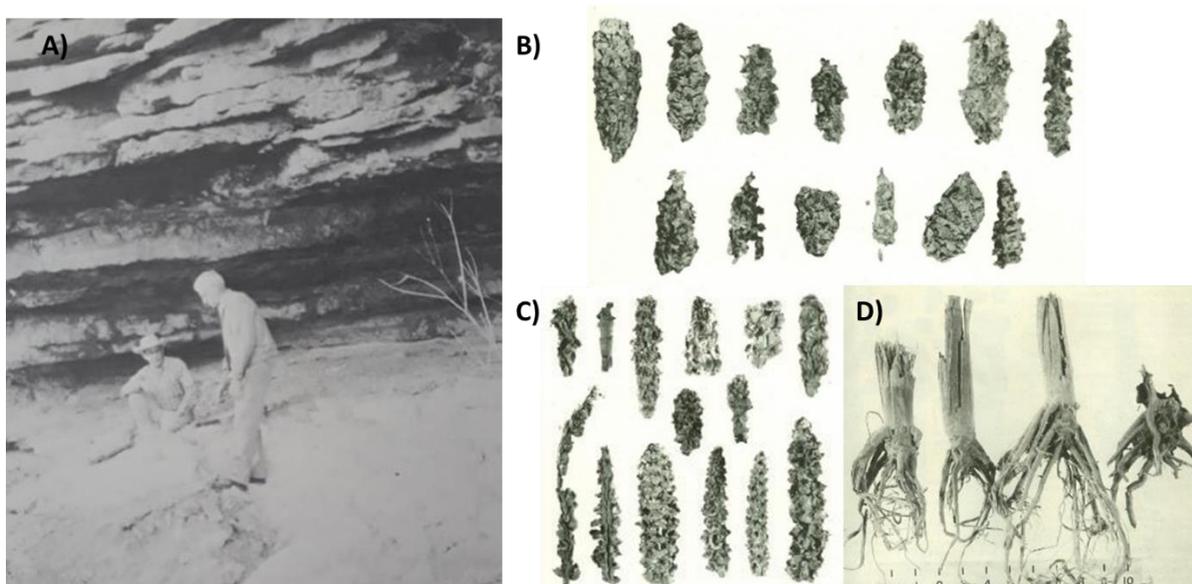


Figura 7: Expediciones originales en la cueva San Marcos. A) Richard MacNeish y Paul Mangelsdorf en la cueva San Marcos en el Valle de Tehuacán. B) y C) Restos de olotes de maíz antiguo encontrado en la cueva San Marcos. D) Restos de raíces antiguas de maíz encontrados en la cueva San Marcos. Modificado de MacNeish, 1967.

1.3.2 Raíces antiguas en la cueva San Marcos.

Cinco raíces de maíz antiguo fueron descritas por MacNeish, (1967) y Mangelsdorf, (1974). Estos estudios realizan comparaciones del tallo, el mesocotilo y el sistema radicular embrionario entre especímenes antiguos y variedades actuales. Indican que el diámetro del tallo de cuatro de los cinco especímenes es de 12, 11, 17 y 10 mm, lo que indica que los cuatro especímenes pertenecían a plantas significativamente más pequeñas que los individuos de variedades agrícolas y que algunas de las razas primitivas de Colombia (Pollo y Pira), cuyo diámetro del tallo oscila entre 21.8-24.2 y 21.6-24.1 mm respectivamente.

Indican también que se encontraron 2 muestras de raíces que tenían el mesocotilo muy corto, de 7 y 11 mm respectivamente. Cuando una semilla germina, el mesocotilo se elonga hasta alcanzar la superficie del suelo. Los mesocotilos cortos sugieren que las semillas correspondientes germinaron cercanas a la superficie del suelo. En otra de las muestras, el mesocotilo prácticamente no existía, por lo que sugirieron que su semilla germinó sobre la superficie del suelo (Figura 8).

Finalmente, Mangelsdorf y MacNeish mencionan que encontraron una raíz con el sistema de raíces seminales completo. Los autores postulan que regularmente este sistema se desarrolla

en fases tempranas de la planta y desaparece una vez que se establece el sistema de raíces post-embrionario, excepto en unas variedades de maíz resistentes a sequía del suroeste de los Estados Unidos en las que el sistema radicular embrionario permanece en toda la vida de la planta y le permite el acceso al agua en las partes profundas del suelo desde las primeras etapas de vida de la planta. Se postula a que las variedades de Tehuacán les hubiera sido muy útil tener estas raíces seminales en toda la vida de la planta debido a las condiciones ambientales subhúmedas. Sin embargo, la evidencia que muestran es únicamente la presencia del mesocotilo y la raíz primaria, y no muestran evidencias de la presencia de raíces seminales en dicho espécimen.

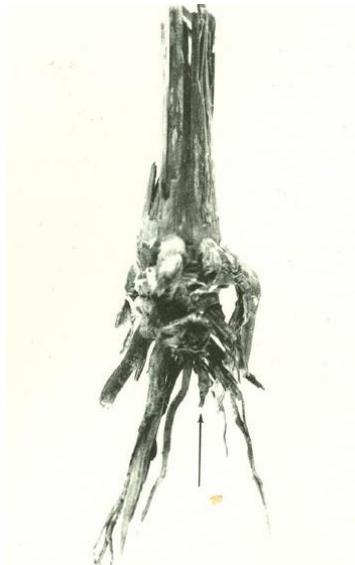


Figura 8: Especimen de raíz proveniente de la cueva San Marcos. El mesocotilo es demasiado corto por lo que se sugiere que la semilla correspondiente germinó en la superficie del suelo. La flecha indica el mesocotilo. Tomado de MacNeish, (1967).

1.4 Desarrollo y fisiología de la raíz.

1.4.1 Arquitectura.

En la primera semana de vida del maíz, cuando la semilla germina, surgen dos estructuras: la radícula y el coleótilo, cuya orientación está dirigida a polos opuestos. Entre la radícula y el coleótilo surge el primer internodo (llamado mesocotilo) que se elonga hacia la superficie hasta que el coleótilo emerge del suelo para alcanzar la luz solar. Mientras tanto, la radícula da lugar a la raíz primaria (Figura 9), la cual busca anclarse en el suelo para obtener agua y nutrientes. Entre el mesocotilo y la raíz primaria se encuentra el nodo

escutelar, del cual surgen las raíces seminales o escutelares. A las raíces seminales en conjunto con la raíz primaria se le llama el sistema radicular embrionario. Luego, entre el mesocotilo y el coleóptilo se genera el primer verticilo o nodo, donde surgirán las primeras raíces coronarias. Posteriormente aparecen más nodos con raíces coronarias adicionales a medida que la planta se desarrolla y crece. Cuando estos nodos rebasan el límite del suelo, reciben el nombre común de raíces de abrazadera o aéreas. Las raíces coronarias y de abrazadera conforman al sistema radicular post-embrionario. De cada tipo radicular surgen raíces laterales y pelos radiculares que son los responsables de la absorción de agua y nutrientes (Ransom, 2013; Hochholdinger, 2009).

1.4.2 Anatomía.

La organización e identidad celular de todos los tipos radiculares es la misma. Las células de las raíces maduras de maíz se organizan poliárquicamente, partiendo del cilindro vascular central hacia la periferia. Dicho cilindro es generalmente denominado estela y tiene de 6 a 10 vasos de metaxilema tardío, los cuales son los vasos más grandes y son responsables del transporte de agua y nutrientes. Dentro del cilindro también se encuentra el metaxilema temprano. Generalmente existen dos o tres cadenas de metaxilema temprano por cada vaso de metaxilema tardío, alternando con el floema primario que se localiza de forma periférica con respecto al metaxilema tardío. El cilindro central es delimitado por el periciclo. Después del periciclo, hacia la región externa, se encuentra la endodermis, que se compone por una capa única de células, así como la banda de Caspary, que representa una barrera del flujo radial de agua y nutrientes. Enseguida de la banda de Caspary, hay de 8 a 15 capas de células de tejido cortical o córtex (Figura 9). Cuando las células corticales mueren, dejan un hueco en el córtex al que se le denomina aerénquima. Finalmente se encuentra la epidermis formada por tricoblastos y atricoblastos, los primeros forman pelos radiculares y los segundos no (Ransom, 2013; Hochholdinger, 2009).

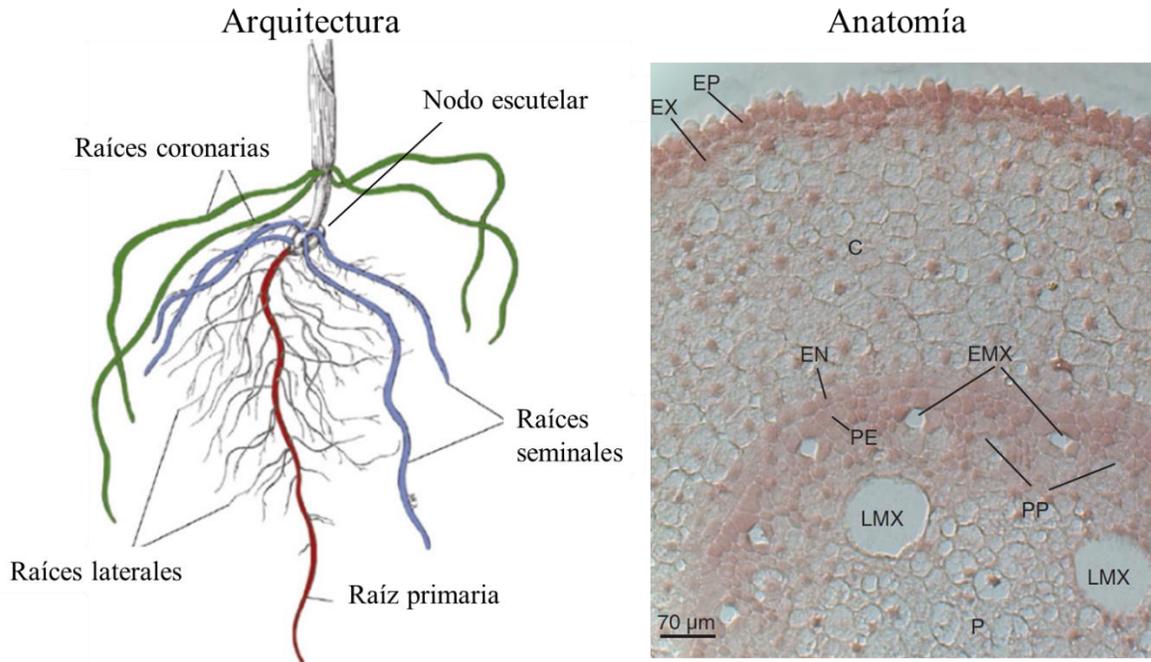


Figura 9: Arquitectura y anatomía de la raíz de maíz. El sistema radicular embrionario lo forman la raíz primaria y las raíces seminales, mientras que el sistema radicular post-embionario lo conforman las raíces nodales, llamadas coronarias cuando están por debajo del suelo y de abrazadera cuando están por encima. La anatomía está compuesta por la medula (P), el metaxilema temprano (EMX) y tardío (LMX), el floema (PP), el periciclo (PE), la endodermis (EN), múltiples capas del córtex (C), una capa de exodermis (EX) y una capa de epidermis (EP). Modificado de Hochholdinger, (2009).

1.5 Comparación del desarrollo y fisiología radicular: maíz vs teocintle.

Un estudio de la diversidad fenotípica de raíces del género *Zea* demostró que el rango para el número de raíces seminales es de 0.5 ± 0.5 en poblaciones de teocintle y de 3.90 ± 1.3 en poblaciones de maíz. En cambio, el rango para el número de raíces coronarias de teocintle es de 24.00 ± 6.9 y de 20.60 ± 4.2 para el maíz. Así mismo, cuando se hace una corrección por alometría, se estima que el número de raíces coronarias en teocintle es de 139.2 y de sólo 29.1 en el caso del maíz (Figura 10; Burton *et al.*, 2013).

Por otro lado, York *et al.* (2015) evaluaron el sistema radicular de híbridos de maíz del panel Dupont Pioneer Era, el cual contiene material utilizado desde 1900 hasta el 2011 en EE. UU. demostrando que, en promedio, las variedades de 2006 a 2011 tienen una raíz coronaria menos por nodo y un ángulo 7° más superficial cuando se compara con las variedades de 1900 a 1941. En este estudio también se usaron fenotipos modernos (2006 al 2011) y antiguos (1900 a 1941) para crear simulaciones en un modelo estructura-función que predice la absorción de nutrientes de la raíz a partir del programa *OpenSimRoot* (Postma *et al.*, 2017).

Los resultados muestran que los fenotipos modernos (con menos raíces coronarias) tienen mayor eficiencia para absorber nitrógeno.

York *et al.* (2015) sugieren que, debido al incremento en la densidad de siembra durante el último siglo, hubo una selección indirecta por rasgos radiculares más eficientes para la absorción de nitrógeno. Los resultados de la simulación fueron confirmados en el campo por Saengwilai *et al.* (2014a), quienes usaron líneas de maíz con un número alto y bajo de raíces coronarias en condiciones de bajo nitrógeno, y demostraron que los sistemas radiculares con menos raíces coronarias pueden penetrar más profundamente en el suelo y alcanzar nutrientes móviles como el nitrógeno (Saengwilai *et al.*, 2014a) y el agua (Gao *et al.*, 2016). De manera opuesta, un mayor número de raíces coronarias incrementa la eficiencia de absorción de fósforo, debido a que un mayor número de raíces coronarias propicia que el sistema radicular se distribuya en las capas superiores del suelo, donde el fósforo se acumula, y por lo tanto la eficiencia de absorción de este nutriente es mayor (Sun *et al.*, 2018).

Con base en los estudios anteriores, se ha propuesto que el sistema radicular de teocintle tiene un fenotipo que propicia la absorción de fósforo, mientras que el sistema radicular de maíz tiene un fenotipo que es más eficiente para la absorción de nitrógeno. Sin embargo, existen otros reportes donde se muestra que la longitud del sistema radicular del teocintle es mayor que en maíz (Gaudin *et al.*, 2013), lo que le permitiría tener acceso a las partes profundas del suelo para absorber agua y nitrógeno. Posiblemente el teocintle tenga un sistema radicular dimórfico (Ho *et al.*, 2005), capaz de explorar los perfiles superficiales y profundos del suelo en busca de nutrientes.

En cuanto a los rasgos de anatomía, las poblaciones de teocintle tienen un área de xilema de $0.039 \pm 0.010 \text{ mm}^2$, mientras que el rango de los maíces es de $0.053 \pm 0.019 \text{ mm}^2$ (Figura 10). De acuerdo con la ecuación de Hagen-Poiseuille, la conductancia hidráulica de un vaso de xilema es proporcional al radio del vaso a la cuarta potencia. Por lo tanto, los vasos de xilema más grandes tienen una conductancia hidráulica mayor. Esto sugiere que durante la domesticación del maíz hubo una selección de genotipos con un área de xilema mayor y por lo tanto de individuos con transporte más rápido y eficiente de nutrientes desde la raíz hasta el tallo, soportando así una mayor cantidad de tejido vegetativo con respecto al teocintle. Al mismo tiempo, las razas de maíz tienen un área de estela mayor (Figura 10), lo que permite

albergar vasos de xilema más grandes y numerosos. Sin embargo, la selección de estos sistemas de transporte de nutrientes involucra una compensación, ya que un área mayor de xilema y estela requiere de una mayor inversión de energía en forma de asimilación de carbono, y también una mayor disponibilidad de agua (Burton *et al.*, 2013).

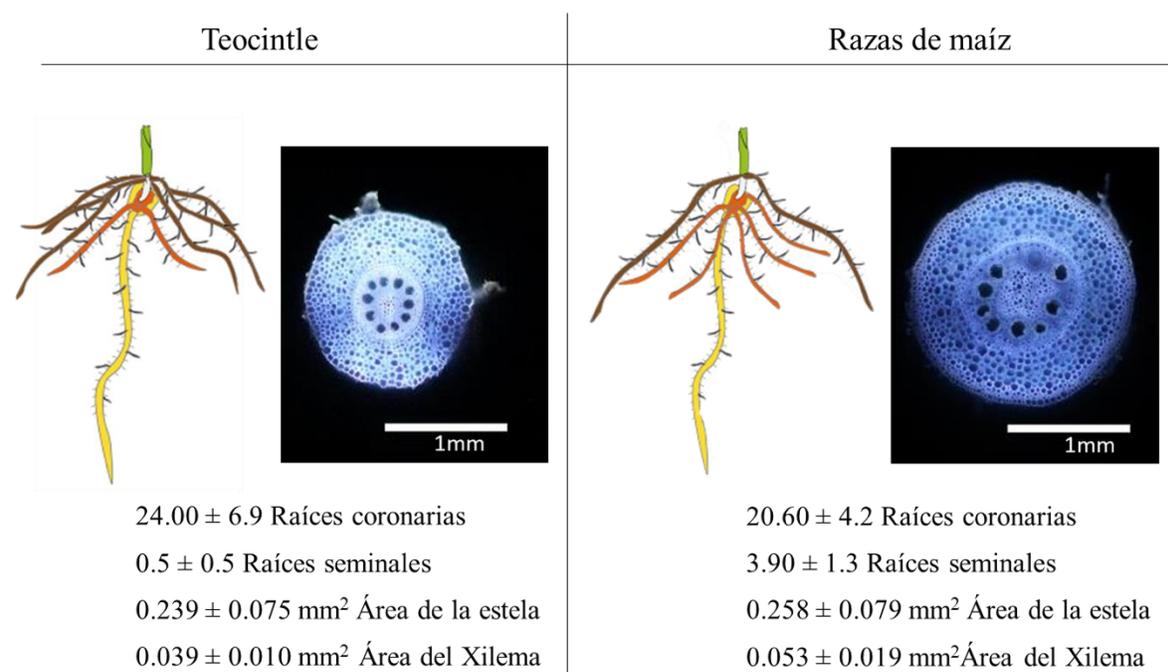


Figura 10: Diferencias de la arquitectura y la anatomía radicular en poblaciones de maíz y teocintle. En color amarillo se muestra la raíz primaria, en color naranja las raíces seminales y en color marrón las raíces coronarias (datos tomados de Burton *et al.*, 2013).

1.6 Uso de modelos para predecir el comportamiento funcional de la raíz.

1.6.1 Relación entre estructura y función.

Durante los últimos 20 años, los fisiólogos que han estudiado la absorción de nutrientes a través de las raíces han logrado relacionar algunas características morfológicas de arquitectura y anatomía radicular con la eficiencia de absorción de nutrientes. Por ejemplo, en maíz se ha postulado que un número mayor de raíces coronarias es mejor para la absorción de fósforo, debido a que el fósforo es un nutriente inmóvil que se concentra en las partes superiores del suelo, y que un sistema radicular con más raíces coronarias genera ángulos superficiales que propician la absorción de fósforo (Sun *et al.*, 2018).

Por otro lado, también se ha postulado que un número menor de raíces coronarias es mejor para la absorción de nitrógeno y agua, esto debido a que el agua y el nitrógeno son móviles

en el suelo y tienden a lixiviarse. Un sistema radicular con menos raíces coronarias genera ángulos más empinados respecto a la base del tallo, que permiten alcanzar las partes más profundas del suelo y ser más eficientes para la absorción de nitrógeno y agua (Saengwilai *et al.*, 2014a; Gao *et al.*, 2016).

Otro ejemplo es la proporción de aerénquima cortical de la raíz. Este tejido resulta de la senescencia de las células corticales dejando huecos o espacios vacíos en el córtex. La presencia de aerénquima se ha relacionado con una mejor eficiencia para la absorción de nutrientes, debido a que una raíz con aerénquima tiene menos células y por lo tanto hay una menor demanda metabólica, lo que permite a la planta invertir su energía en producir raíces más largas que cubren un mayor volumen de suelo, y que por lo tanto pueden absorber más nutrientes (Saengwilai *et al.*, 2014b).

1.6.2 *OpenSimRoot*.

Utilizando la información que se tiene sobre cómo influye la morfología en la absorción de nutrientes, ha sido posible crear programas para simular cómo crece una raíz con una morfología determinada y qué tan eficiente es para absorber nutrientes. Uno de los programas más completos se llama *OpenSimRoot* y fue desarrollado por un equipo multidisciplinario de programadores y fisiólogos vegetales bajo la dirección de Jonathan Lynch (Postma *et al.*, 2017).

Para simular el crecimiento de las raíces se asume la existencia de un hipocótilo como punto de partida, del cual se van a desarrollar las raíces en un espacio de tres dimensiones y en un tiempo de 40 días. El crecimiento de las raíces desde el hipocótilo se determina a partir de coordenadas dinámicas y estacionarias. Las coordenadas dinámicas obtienen su valor de vectores de tropismo, que es una suma de algoritmos de gravitropismo, nutritropismo e impedancia aleatoria. Cada día, las coordenadas estacionarias toman el valor de la coordenada dinámica dejando un rastro del crecimiento de la raíz en tres dimensiones. Durante el crecimiento de la raíz, existen reglas de ramificación las cuales determinan qué tipo de raíz se desarrolla en un tiempo determinado. En el maíz, la raíz primaria inicia el crecimiento; posteriormente se desarrollan las raíces seminales, luego las coronarias, consecutivamente desde el primer hasta el último nodo y finalmente las raíces de abrazadera.

Durante el crecimiento, el programa permite modificar parámetros para la tasa de elongación, la frecuencia de ramificación, el ángulo de crecimiento y el número de raíces seminales y coronarias. El simulador incluye un módulo de crecimiento del tallo, el cual se expresa en el área de la hoja y el peso seco de la planta. Para calcular el peso seco de la planta, el módulo correspondiente hace una operación simple donde resta el carbono gastado del carbono disponible. El carbono disponible proviene de las reservas de la semilla y de la fotosíntesis. La fotosíntesis utiliza un modelo de eficiencia de uso de la radiación, donde se calcula la fijación de carbono considerando la luz interceptada y el área de la hoja, asumiendo una canopea homogénea. El modelo de uso de radiación también considera la disponibilidad de nitrógeno para la eficiencia de fijación; si la concentración de nitrógeno no es óptima, disminuirá la tasa de fijación de carbono. El carbono gastado considera el costo metabólico de los tejidos debido a la respiración y los exudados radiculares. En caso de que exista un alto porcentaje de aerénquima, se reduce el costo metabólico e incrementa el carbono disponible.

En el simulador se incluyen módulos de absorción de nutrientes. El módulo *Barber Cushman* simula la absorción de fósforo y el módulo *Soil Water Flow Model 3D (SWMS 3D)* la absorción de nitrógeno. En la simulación se establece una concentración determinada de nutrientes; si dicha concentración se reduce por debajo del óptimo, se produce un efecto de estrés que se reflejará en otros módulos. Por ejemplo, si existe un estrés por carencia de nitrógeno, la tasa fotosintética se verá reducida, habrá menos carbono disponible y el peso seco será menor. Si existe un estrés por carencia de fósforo, se disminuye la tasa de expansión de la hoja, la eficiencia de fotosíntesis disminuye y también disminuye el peso seco final.

Finalmente, existen tres módulos de hidrología distintos que simulan el movimiento del agua en el suelo (SWMS), la planta (red hidráulica) y la atmosfera (Penman-Monteith). Esta herramienta es bastante útil cuando se conoce la morfología de un sistema radicular y se desea predecir su capacidad de absorción de nutrientes (Postma *et al.*, 2017).

2 OBJETIVOS.

2.1 Objetivo general.

- Caracterizar cualitativa y cuantitativamente el fenotipo de la raíz de maíz antiguo de Tehuacán y compararlo con la variación fenotípica de poblaciones de maíz y teocintle actuales.

2.2 Objetivos específicos.

- Caracterizar de manera cualitativa y cuantitativa la arquitectura y anatomía de una raíz de aproximadamente 5000 años originaria del Valle de Tehuacán.
- Comparar rasgos fenotípicos de la raíz antigua de Tehuacán con los rasgos fenotípicos de raíz del maíz y teocintle actual.
- Con base en dichos rasgos fenotípicos, predecir el comportamiento funcional de la raíz antigua de Tehuacán y compararlo al funcionamiento de la raíz del maíz y teocintle actual.

3 MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 Especímenes antiguos.

3.1.1 Obtención.

En este estudio se utilizaron 14 sistemas radiculares antiguos de maíz asignándoles letras en orden alfabético de A hasta N (Figura 12). La muestra A (correspondiente al espécimen SM3 en Vallebuena-Estrada *et al.*, 2016) data de 5,280 a 4,970 años calibrados antes del presente (BP) y fue encontrada en la cueva San Marcos en el valle de Tehuacán. La muestra B es una raíz de maíz que data de 233 a 60 BP encontrada en la cueva El Morro, Aramberri (Rivera, 2016). Las muestras C a I son raíces de la cueva San Marcos del Valle de Tehuacán que datan de 5280 a 4080 BP. Las muestras J a N son raíces de la cueva El Riego del Valle de Tehuacán y datan de 1714 a 1412 BP. Las muestras C a N son especímenes originales de la expedición de Richard MacNeish, ocurrida entre 1961 y 1962. Pertenecen a la colección de maíz antiguo del Instituto Nacional de Antropología e Historia (INAH), y fueron facilitadas para este estudio por la Dra. Aurora Montúfar López, con autorización del INAH. Estas muestras fueron datadas en el contexto de este trabajo.

3.1.2 Datación.

El carbono 14 (^{14}C) ha sido ampliamente utilizado para fechar restos orgánicos. El fundamento se basa en que todo ser vivo contiene carbono. Dicho carbono proviene de la atmosfera, y se integra al material vegetal a través de la fotosíntesis. Existe más de una forma de carbono: el carbono 12 (^{12}C) que contiene 6 protones y 6 neutrones, el ^{14}C que contiene 6 protones y 8 neutrones y el carbono 13 (^{13}C) que contiene 7 neutrones y 6 protones. El ^{14}C se descompone con facilidad y la proporción de átomos de carbono que se encuentra en la atmosfera es casi la misma a la que se encuentra en los organismos (Aitken, 1990). El ^{14}C se descompone a una tasa determinada; se ha propuesto que el contenido de ^{14}C disminuye a la mitad en $5,568 \pm 30$ años después de la muerte (Libby *et al.*, 1949), mientras que el ^{12}C permanece constante. Por lo tanto, calculando la proporción de ^{12}C y ^{14}C podremos obtener un estimado de cuantos años han pasado desde que un organismo ha muerto. La proporción de ^{13}C del carbono total de la atmosfera es de 1.1%, por lo que no es informativo para el análisis. Cada uno de los especímenes fue datado por espectrometría de masas acoplada a un acelerador de partículas (AMS, por sus siglas en inglés). Este servicio fue provisto por Beta Analytic (Miami, EE. UU.).

3.2 Análisis morfométrico.

3.2.1 Arquitectura.

La capa más externa de las raíces coronarias (raíces nodales subterráneas) de todas las muestras antiguas fue fotografiada sobre fondo negro mate utilizando una cámara Nikon D3300 sujeta a un soporte. Se incluyó una regla en centímetros en cada imagen como referencia de la escala. El análisis de imágenes se realizó en RSAJ (disponible en: <http://plantscience.psu.edu/roots/methods/computer/RSAJ>) que es un complemento ObjectJ (disponible en: <https://sils.fnwi.uva.nl/bcb/objectj/>) para ImageJ. El diámetro del tallo se midió en el verticilo más basal de las raíces de abrazadera, mientras que el diámetro del sistema radicular se midió en la parte más ancha de la arquitectura radicular. El número de raíces coronarias por nodo se contó manualmente. Para calcular el ángulo radicular, se calcula el diámetro del tallo en su parte más basal y el diámetro máximo del sistema radicular. Estas dos longitudes permiten determinar el eje vertical de la planta y el punto extremo a la periferia del sistema radicular (Figura 11). El ángulo radicular es el que forman el eje de la planta con

respecto al eje de cruza por el punto a la periferia radicular. Únicamente fue posible determinar el número de raíces seminales en el espécimen D (Figura 12 y 13), ya que la mayoría de los especímenes carecía de un sistema radicular embrionario. Se utilizó un microscopio digital de alta resolución Keyence VHX con un lente de 20 y 50X para obtener imágenes del nodo escutelar.

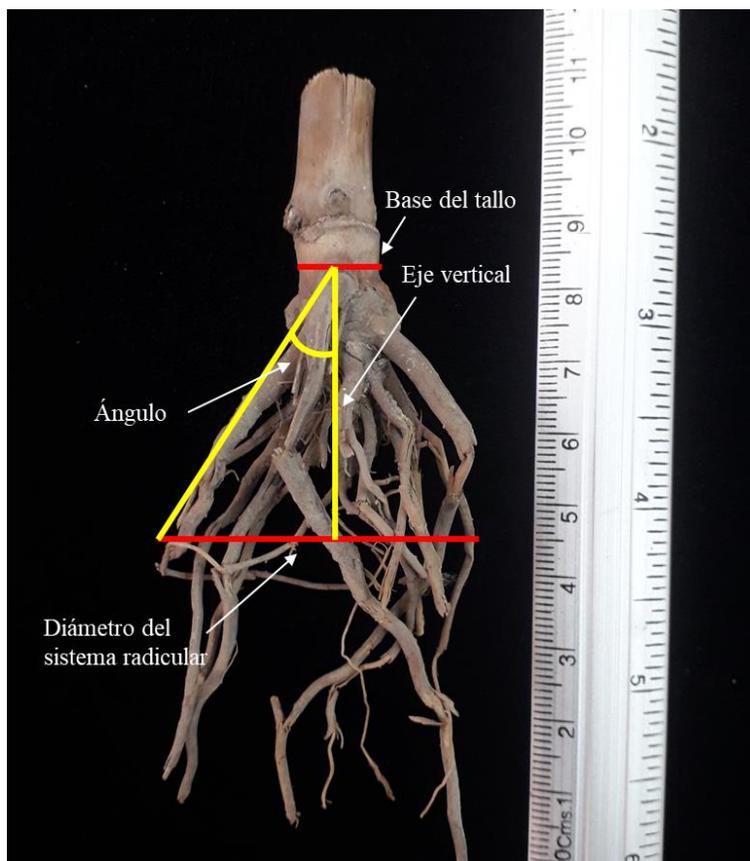


Figura 11: Esquema con los componentes para calcular el ángulo de la raíz.

3.2.2 Anatomía.

En los especímenes A y B se seleccionó un segmento de una raíz coronaria del segundo nodo siguiendo el protocolo de Burton, (2013), y se utilizó la tomografía por ablación láser 2.0 (LAT.2) para obtener imágenes de la sección transversal de la raíz. El dispositivo LAT.2 consiste en un rayo láser (s-Pulse HP, 343 nm THG, Amplitude Systems, Francia) que oscila en el plano focal de una cámara (cámara digital α 7R III, Sony. MP-65 mm F / 2.8 Lente macro de foto de 1 a 5, Canon). El segmento de raíz seleccionado pasa a través del rayo láser que vaporiza o sublima la muestra mientras la cámara captura la imagen transversal. Las imágenes obtenidas se analizaron utilizando el software RootScan 2.3v, el cual permite medir

rasgos anatómicos como el área de la sección transversal, el área de la estela, el área del córtex, el área del xilema, el número de células corticales, el número de filas de células corticales y el tamaño de las células corticales (Burton *et al.*, 2012). Para cada muestra, se capturaron 700 imágenes correspondientes a un segmento transversal de 7 mm, tomando una imagen cada 10 μm . Se acoplaron las imágenes utilizando el programa Avizo y se crearon animaciones en tres dimensiones para el espécimen A y B (DVD anexo).

3.3 Modelo predictivo del crecimiento y absorción de nutrientes de la raíz antigua.

El programa OpenSimRoot permitió crear simulaciones de raíces de 61 teocintles, 195 razas de maíz, 2 variedades mejoradas (Mo17 y B73), el espécimen A y el espécimen D, con base en los rasgos de la arquitectura de raíz de cada uno. En los especímenes antiguos A y D se utilizó el valor de 0 para el número de raíces seminales. Los datos para los rasgos de arquitectura de teocintles, razas de maíz e híbridos se obtuvieron de Burton, (2013) y Burton, (2015). OpenSimRoot es un modelo que simula la adquisición y el uso de nutrientes por un sistema radicular con una morfología determinada (ver la sección 1.6.2). Utilizamos el número de raíces seminales y coronarias para crear las simulaciones de cada individuo. Se ejecutaron 260 simulaciones en 4 condiciones diferentes: alto nitrógeno y fósforo (HNHP), bajo nitrógeno y alto fósforo (LN), alto nitrógeno y bajo fósforo (LP) y bajo nitrógeno y fósforo (LNLP). En total se ejecutaron 1,040 simulaciones. Los archivos de entrada y salida correspondientes a cada individuo, así como las concentraciones utilizadas, pueden ser consultados en el DVD anexo.

3.4 Análisis del gen *RUM1*.

Para comparar el gen *RUM1* en teocintles, maíces y especímenes antiguos, se extrajeron los SNP incluidos en el segmento del cromosoma 3 comprendido entre las coordenadas 209176237 y 209179599 correspondientes a los individuos del HapMapv3, y se seleccionaron tres variedades de maíz (B73, NS701 y PHW30), tres teocintles *parviglumis* (TIL12, TIL15 y TIL10), un teocintle *mexicana* (TIL08) y dos especímenes antiguos de 5300 a 5000 años provenientes del valle de Tehuacán (SM3 y SM10), incluyendo una línea de *Tripsacum* (TDD39103) para enraizar el árbol. Una vez que se tenían los SNP correspondientes a *RUM1*, se completó la secuencia utilizando el genoma de referencia de B73 v3 y se transformaron los archivos a formato fasta. Las secuencias antiguas de los

especímenes SM3 y SM10 fueron obtenidas de Vallebuena-Estrada *et al.*, (2016). Se crearon cuatro topologías de tipo filogenético para teocintles, maíces y muestras antiguas utilizando la secuencia de *RUM1*. Se utilizó el programa MEGA para alinear las secuencias de maíz, teocintle y muestras antiguas. Posteriormente se realizó un análisis para encontrar el mejor modelo para crear la filogenia. El método más apropiado para los datos fue el Kimura 2, el cual fue utilizado en todos los análisis. Las filogenias fueron creadas por los métodos UPGMA, Neighbor-Joining, máxima verosimilitud y de evolución mínima.

4 RESULTADOS.

4.1 Especímenes antiguos.

Los especímenes utilizados para este trabajo corresponden a fragmentos del sistema radicular y tallo de plantas antiguas de maíz. Estos especímenes fueron divididos en 4 categorías:

- a) La primera corresponde al espécimen A (Figura 12A), el cual fue encontrado en la expedición realizada en 2012, reportada en Vallebuena-Estrada *et al.*, (2016). El espécimen SM3 fue utilizado para extraer y secuenciar ADN endógeno, a partir del cual se pudieron cubrir 65.58 Mb de su genoma y obtener 100,540 SNP. Una topología filogenética demostró que el maíz correspondiente al espécimen A (SM3) estaba parcialmente domesticado. Así mismo, el alto grado de homocigosis muestra que pertenecía a una población pequeña. La antigüedad de este espécimen oscila entre 5,280 y 4,970 BP (Vallebuena-Estrada *et al.*, 2016).
- b) La segunda categoría incluye al espécimen B (Figura 12B), el cual fue encontrado en la excavación reportada en Rivera, (2016) correspondiente a la cueva El Morro, Aramberri, N.L. La antigüedad de este espécimen oscila entre 233 a 60 años antes del presente. Al ser una muestra muy reciente, es útil como control de una raíz supuestamente de maíz completamente domesticado.
- c) La tercera categoría corresponde a siete especímenes (Figura 12C a D), los cuales fueron encontrados en la cueva San Marcos, en el Valle de Tehuacán, durante la expedición de Richard MacNeish en los años 1961 a 1962 (MacNeish, 1967). Las siete muestras fueron encontradas en la Zona B que corresponde a la segunda de seis capas de roca caída, siendo la Zona A la más superficial. La antigüedad de estos restos oscila entre 5280 y 4080 BP.

- d) La cuarta categoría corresponde a cinco especímenes (Figura 12J a N). Estos especímenes fueron encontrados en la cueva el Riego, en el Valle de Tehuacán, por MacNeish en la expedición de 1961 a 1962 (MacNeish, 1967). La muestra J fue encontrada en la fase Venta Salada. La antigüedad de estos restos oscila entre 1714 y 1412 BP.

Cueva San Marcos, Valle de Tehuacán, Pue.

5280 - 4970 BP



Cueva El Morro, Aramberri, N.L.

233 - 60 BP

Cueva San Marcos, Valle de Tehuacán, Pue.

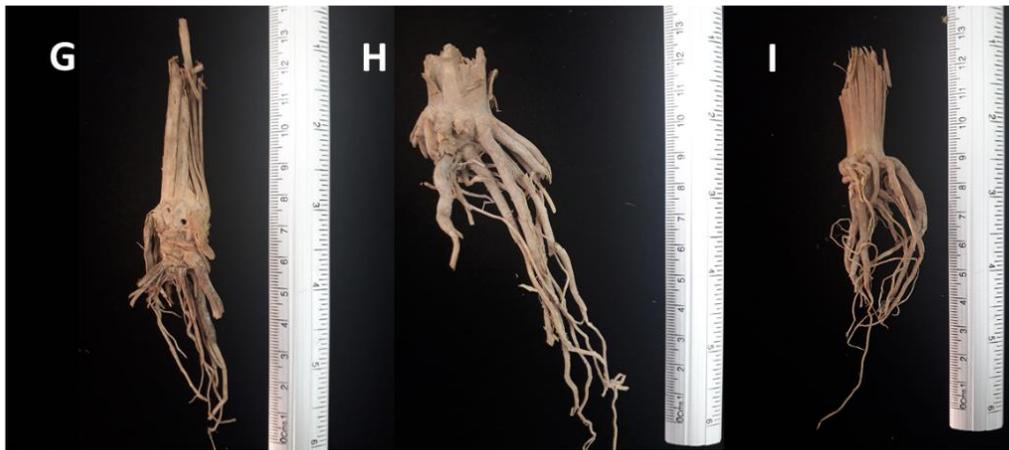


4962 - 4840 BP

5280 - 4956 BP

5305 - 5050 BP

5030 - 4850 BP



5214 - 4866 BP

5034 - 4853 BP

5301 - 4048 BP

Cueva El Riego, Valle de Tehuacán, Pue.

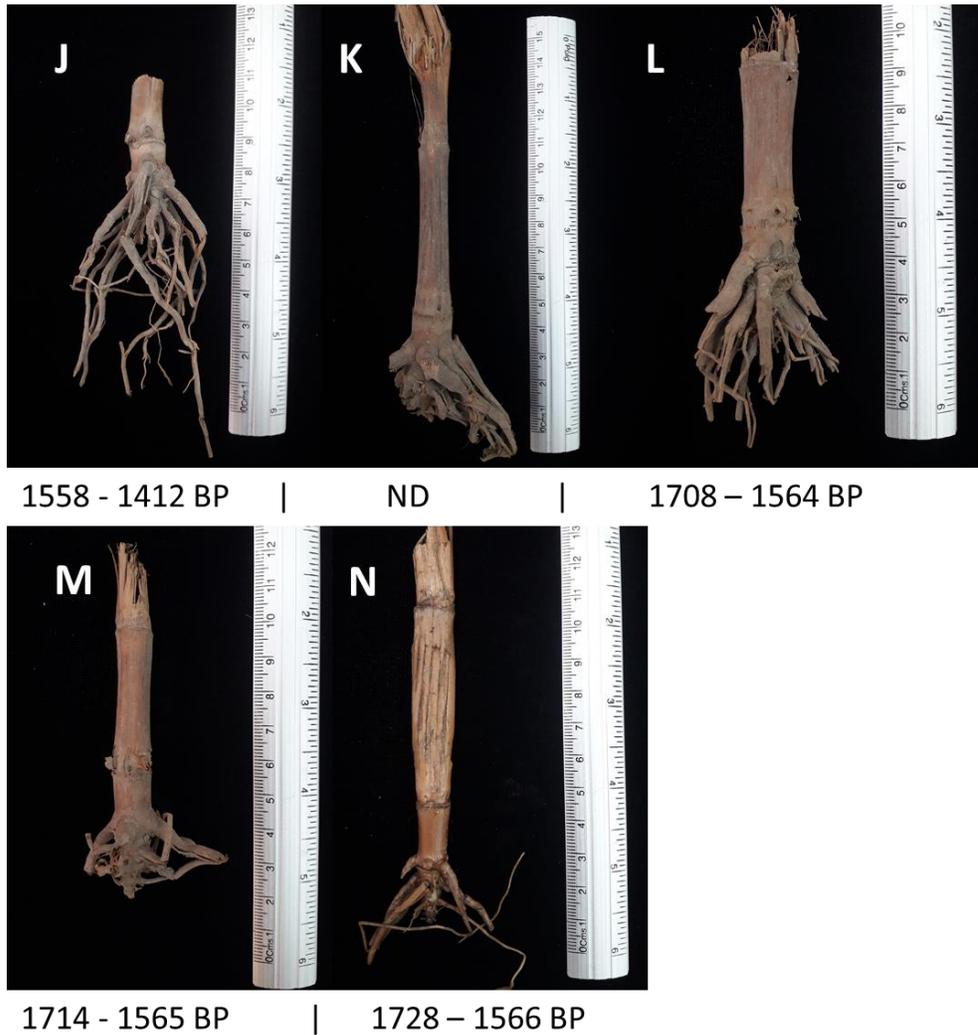


Figura 12: Especímenes de raíces antiguas de maíz utilizados en este estudio. A) Raíz de maíz semi-domesticado que data de 5,280 a 4,970 BP encontrado en la cueva San Marcos, en el valle de Tehuacán (Vallebueno-Estrada *et al.*, 2016). B) Raíz de maíz que data de 233 a 60 BP encontrada en la cueva El Morro, Aramberri (Rivera, 2016). C a I) Raíces de la cueva San Marcos del Valle de Tehuacán que datan de 5280 a 4080 BP y J a N) raíces de la cueva El Riego del Valle de Tehuacán cuya antigüedad data de 1714 a 1412 BP; estas muestras fueron recolectadas en la expedición de Richard MacNeish en 1961 y 1962 (MacNeish, 1967). En cada imagen se incluye una escala graduada en centímetros.

4.2 Arquitectura radicular.

La caracterización de los rasgos de arquitectura radicular consistió en la medición del diámetro del tallo, así como la determinación del número de raíces seminales, del número de raíces coronarias por nodo, del diámetro del sistema radicular y del ángulo radicular. Los valores obtenidos se muestran en la Tabla 2.

4.2.1 Diámetro del tallo.

En la Tabla 2 se muestra que el valor promedio del diámetro del tallo para un conjunto de 61 poblaciones de teocintles es de 17.10 ± 4.5 mm, mientras que para 195 poblaciones de maíz es de 22.80 ± 4 mm (Burton *et al.*, 2013). Todos los valores obtenidos para las muestras antiguas son menores al valor promedio de las raíces de teocintle, excepto para las muestras B, G y H, que tienen valores de 20.1, 17.5 y 21.5 mm, respectivamente (Tabla S1). Sin embargo, la desviación estándar de los valores promedio tanto para los teocintles como para las razas de maíz es muy amplia, por lo que las distribuciones se traslapan. Por lo tanto, no es posible ubicar a las muestras antiguas con un grupo específico utilizando este rasgo.

4.2.2 Número de raíces seminales.

Las raíces seminales se desarrollan a partir del nodo escutelar, el cual es una región muy frágil que tiende a desprenderse si la planta se extrae del suelo sin cuidado. De los 14 especímenes antiguos, únicamente la raíz D conserva el nodo escutelar. Una imagen de alta resolución del nodo escutelar muestra que no existen raíces o cicatrices que indiquen la presencia de raíces seminales (Figura 13; Tabla S1).

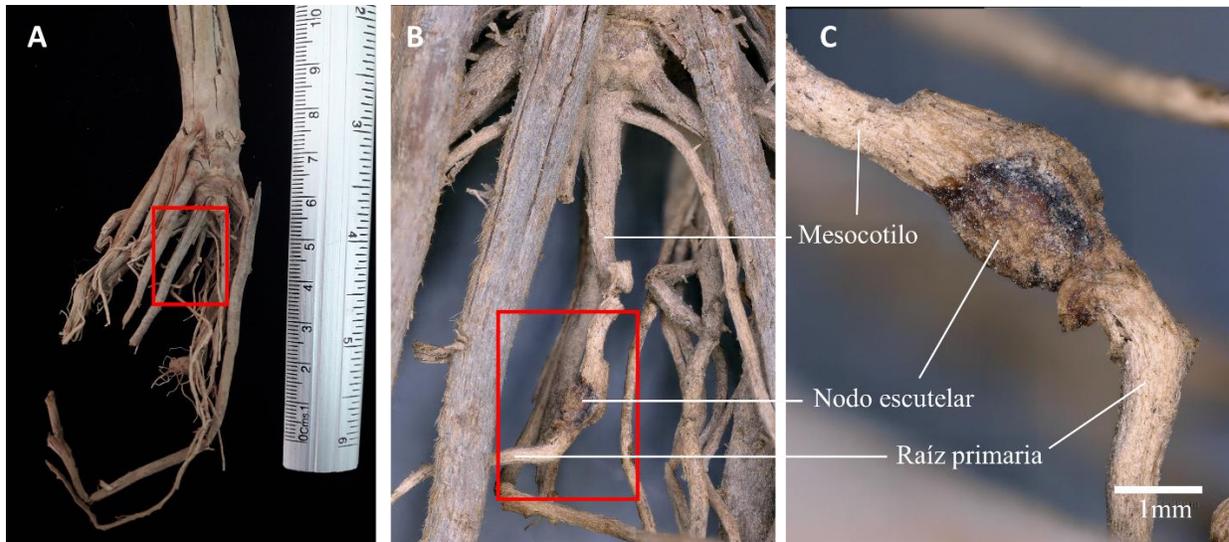


Figura 13: Ausencia de raíces seminales en el nodo escutelar del espécimen D, que corresponde a una raíz antigua de maíz que data de 5280 – 4956 BP proveniente de la cueva San Marcos, en el Valle de Tehuacán. El recuadro rojo muestra la región del nodo escutelar. A) Especimen D completo. Aumento de B) 20X y C) 50X en el nodo escutelar. Las imágenes B) y C) fueron obtenidas con un microscopio digital de alta resolución Keyence VHX. (Barra de escala, 1 mm).

En la Tabla 2 se muestra que el número promedio de raíces seminales para 195 razas de maíz es de 3.90 ± 1.3 mientras que para 61 teocintles dicho número es de 0.5 ± 0.5 . Las desviaciones estándar son suficientemente estrechas para que las distribuciones de teocintle y maíz se separen. Al estar ausente cualquier rastro de raíz seminal, el espécimen D es claramente parecido a las raíces actuales de teocintle y no de maíz.

4.2.3 Número de raíces coronarias.

El número promedio de raíces coronarias para los teocintles es de 24.00 ± 6.9 , mientras que para los maíces es de 20.60 ± 4.2 . Aunque se ha postulado que cuando se realiza un ajuste alométrico los teocintles tienden a tener un mayor número de raíces coronarias (Burton *et al.*, 2013), los datos crudos no muestran esta tendencia y la desviación estándar es demasiado amplia, por lo que las distribuciones se traslapan y no se observa una diferencia clara entre teocintle y maíz para este rasgo. Para las muestras antiguas de las cuevas San Marcos y El Riego, el número de raíces coronarias fue de 14.87 ± 2.47 y 15.2 ± 1.47 , respectivamente.

Los valores reportados por Burton, (2013) fueron obtenidos de individuos 28 días después de la siembra (DAP, por sus siglas en inglés). En el maíz, se ha reportado que a los 35 DAP se desarrollan al menos 5 nodos radicales (Gao *et al.*, 2016; Sun *et al.*, 2018). Debido a que los individuos del panel de diversidad reportado por Burton, (2013) son 7 días más jóvenes,

el número de raíces coronarias de los especímenes antiguos se obtuvo contando las raíces hasta el cuarto nodo para mantener consistencia con el panel (Tabla S2).

El sistema radicular de todos los especímenes antiguos tiene al menos cinco nodos desarrollados (Tabla S2). Generalmente, el quinto nodo del maíz se desarrolla cuando la planta llega a la etapa V7-V8, que corresponde al desarrollo de 7 a 8 hojas con collar antes de la floración (Ransom J. 2013; Endicott S. *et al.*, 2015). Los especímenes A, G, H, I y J tienen cinco nodos, y las muestras C, D, E, F, L, M, N tienen seis nodos (Tabla S2). Esto sugiere que las plantas provenientes de las cuevas San Marcos y El Riego se encontraban en un punto similar de desarrollo cuando fueron llevadas a las cuevas.

Por otro lado, el espécimen B (El Morro) tiene nueve nodos y el K (El Riego) tiene siete. Las raíces de estos últimos nodos corresponden a raíces de abrazadera, las cuales se desarrollan en las etapas V12-V15 (Ransom, 2013). Las plantas utilizadas en el estudio de diversidad fenotípica radicular de Burton, (2013) fueron cosechadas en etapas juveniles y por lo tanto no se obtuvieron valores para el número de raíces de abrazadera. Hasta la fecha no existen reportes comparativos en raíces de abrazadera en maíz y teocintle.

4.2.4 *Diámetro del sistema radicular.*

El promedio del diámetro del sistema radicular es de 45.10 ± 13.9 y de 60.90 ± 14 mm para poblaciones de teocintle y de maíz, respectivamente. En todos los especímenes antiguos el diámetro del sistema radicular fue menor al promedio de teocintle. El valor promedio para los especímenes antiguos de las cuevas San Marcos y El Riego fue de 29.9 ± 6.6 y 36.44 ± 3.1 mm, respectivamente. Las desviaciones estándar tanto para teocintle como maíz son muy amplias, por lo que las distribuciones de ambas poblaciones se traslapan y no es posible ubicar a las muestras antiguas en una población específica.

4.2.5 *Ángulo.*

El valor promedio para el ángulo de los especímenes antiguos de la cueva San Marcos y El Riego fue de 42.16 ± 17.97 y 64.55 ± 16.64 grados, respectivamente, considerando el eje perpendicular inferior a la base del tallo como cero. Se ha propuesto que las raíces de teocintle tienen un ángulo más superficial en función del diámetro del sistema radicular (Burton *et al.*, 2013); sin embargo, como se mencionó antes, las distribuciones para este rasgo se traslapan,

por lo que no es posible determinar si las poblaciones de teocintle y maíz difieren en el ángulo de sus raíces.

Tabla 2: Rasgos de arquitectura radicular de las muestras antiguas A a N. Los promedios para los teocintles (*Zea spp.*) y las razas de maíz (*Zea mays subsp. mays*) fueron reportados en Burton, (2013). *Zea spp.* incluye *Zea mays ssp. parviglumis*, *Zea mays ssp. mexicana*, *Zea mays ssp. huehuetenangensis*, *Zea perennis*, *Zea luxurians* y *Zea nicaraguensis*.

		<i>Teocintles</i> <i>n=61</i>	<i>San Marcos</i> <i>n=7</i> 5280–4080 <i>BP</i>	<i>El Riego</i> <i>n=5</i> 1714-1412 <i>BP</i>	<i>El Morro</i> <i>n=1</i> 233-60 <i>BP</i>	<i>Razas</i> <i>n=195</i>
	<u>Rasgos de</u> <u>Arquitectura</u>	<u>promedio ±</u> <u>d.s.</u>	<u>promedio ±</u> <u>d.s.</u>	<u>promedio ±</u> <u>d.s.</u>	<u>promedio ±</u> <u>d.s.</u>	<u>promedio ±</u> <u>d.s.</u>
Abreviación	Descripción					
<i>StemDia</i>	Diámetro del tallo, (mm)	17.10 ± 4.5	14.44 ± 3.22	12.06 ± 2.36	20.1	22.80 ± 4.5
<i>Sem#</i>	Número de raíces seminales	0.5 ± 0.5	ND	ND	ND	3.90 ± 1.3
<i>Nod#</i>	Número de raíces coronarias	24.00 ± 6.9	14.87 ± 2.47	15.2 ± 1.47	24	20.60 ± 4.2
<i>SysDia</i>	Diámetro del sistema radicular, (mm)	45.10 ± 13.9	29.9 ± 6.6	36.44 ± 3.1	35	60.90 ± 14.5
<i>A</i>	Ángulo		42.16 ± 17.97	64.55 ± 16.64	44.85	

ND. No determinado debido a deterioro del espécimen.

d.s. Desviación estándar

4.3 Anatomía radicular.

Para la caracterización de la anatomía de las raíces antiguas se obtuvieron cortes transversales del segundo nodo de raíz coronaria y se capturaron imágenes por LAT.2 para su análisis (Figura 14). Se obtuvo el segmento del segundo nodo a una distancia de 5 cm con respecto a la base para mantener consistencia con el panel de diversidad fenotípica radicular reportado en Burton, (2013). Los rasgos anatómicos que se midieron fueron el área transversal, el área del córtex, el área de la estela, el área del aerénquima, el área del xilema, el número de células corticales, el tamaño de las células corticales y el número de filas de células corticales.

Únicamente se midieron estos rasgos en los especímenes A y B debido a que los especímenes de la tercera y cuarta categoría pertenecen a la colección de maíz antiguo del INAH y fueron facilitados para su análisis en una fecha posterior al estudio anatómico de las muestras A y B. Actualmente la anatomía de estos especímenes adicionales está en proceso de análisis.

4.3.1 Área transversal y área del córtex.

Los valores para el área transversal son muy similares en poblaciones de teocintle y maíz, 0.966 ± 0.280 y 0.966 ± 0.258 mm², respectivamente (Tabla 3). El espécimen A presenta un valor de 0.95 mm², que se encuentra en el rango de distribución de ambas poblaciones. Por otro lado, el espécimen B tiene un valor de 2.28 mm², que es muy superior a los valores reportados para maíz o teocintle.

Esto es similar cuando se compara el área del córtex. Los valores para las poblaciones de teocintle y maíz son de 0.727 ± 0.211 y 0.708 ± 0.187 mm², respectivamente (Tabla 3). El valor obtenido para el espécimen A es de 0.74 mm², mismo que está dentro de la distribución de ambas subespecies. En cambio, el espécimen B presenta un valor de 1.43 mm², muy superior a los valores reportados anteriormente para maíz. Este fenómeno ocurre en todos los rasgos de anatomía medidos en el espécimen B. El sistema radicular de B tiene nueve nodos, lo que corresponde a una etapa de desarrollo posterior a la V12 (Ransom, 2013), mientras que los datos obtenidos para las muestras actuales de maíz y teocintle corresponden a la etapa V6-V7 (Burton *et al.*, 2013), lo que sugiere que B corresponde a una planta en un estado de desarrollo más tardío comparado con los demás especímenes analizados, o que pertenece a una especie de Poácea fuera del género *Zea*.

4.3.2 Área de la estela.

El valor de área de la estela reportado para poblaciones de teocintle y maíz es de 0.239 ± 0.075 y de 0.258 ± 0.079 mm², respectivamente. El espécimen A presenta un valor de 0.22 mm², que es similar al valor promedio de los teocintles. Sin embargo, la desviación estándar de las poblaciones de teocintle y maíz es suficientemente amplia para que ambas distribuciones se traslapen, y por lo tanto el valor del espécimen A no es exclusivo de poblaciones de teocintle.

4.3.3 Área del xilema.

Si comparamos el área del xilema, observamos algo similar a lo que ocurre para el área de la estela. El rango de los teocintles es de $0.039 \pm 0.010 \text{ mm}^2$ mientras que el rango de los maíces es de $0.053 \pm 0.019 \text{ mm}^2$. El valor obtenido para el espécimen A es de 0.03 mm^2 , muy similar al promedio obtenido para el teocintle. Sin embargo, las desviaciones estándar de ambas poblaciones se traslapan, de tal forma que es imposible agrupar al espécimen antiguo únicamente con los teocintles.

4.3.4 Área de aerénquima.

El espécimen A no mostró presencia de aerénquima. En cambio, el espécimen B presentó 4.89%. El valor de porcentaje de aerénquima es uno de los rasgos más variables en teocintles y maíces; oscila entre 6.57 ± 5.34 y $6.49 \pm 5.25 \%$, respectivamente. Al ser un rasgo indistinguible entre teocintles y maíces, no se utilizó como un rasgo para diferenciar ambos grupos.

4.3.5 Tamaño, filas y número de células corticales.

En el espécimen A, el número de células corticales es de 1346 mientras que el reportado en maíces y teocintles es de 596 ± 141 y 595.7 ± 134.5 , respectivamente; sin embargo, el tamaño de las células del espécimen A es de 0.25 mm^2 , mientras que el reportado para maíces y teocintle es de 0.658 ± 0.167 y $0.671 \pm 0.177 \text{ mm}^2$. Al tener más células, pero ser más pequeñas, el área transversal general del espécimen A ($1346 \times 0.25 \text{ mm}^2$) es similar a la reportada para el género *Zea* (en este caso 392 mm^2 para maíces y 399.7 mm^2 para teocintles). El número de filas de células corticales es de 13.67, mientras que en maíz y teocintle es de 9.96 ± 1.09 y 10.04 ± 0.98 . En el espécimen B, los valores para el tamaño, número y filas de células corticales fue de 0.57 mm^2 , 2454 y 18.67 respectivamente. Debido a que los valores obtenidos para el espécimen B son varios ordenes de magnitud mayores que los del panel de diversidad reportado en Burton (2013), se excluyó a este espécimen del análisis comparativo de rasgos anatómicos.

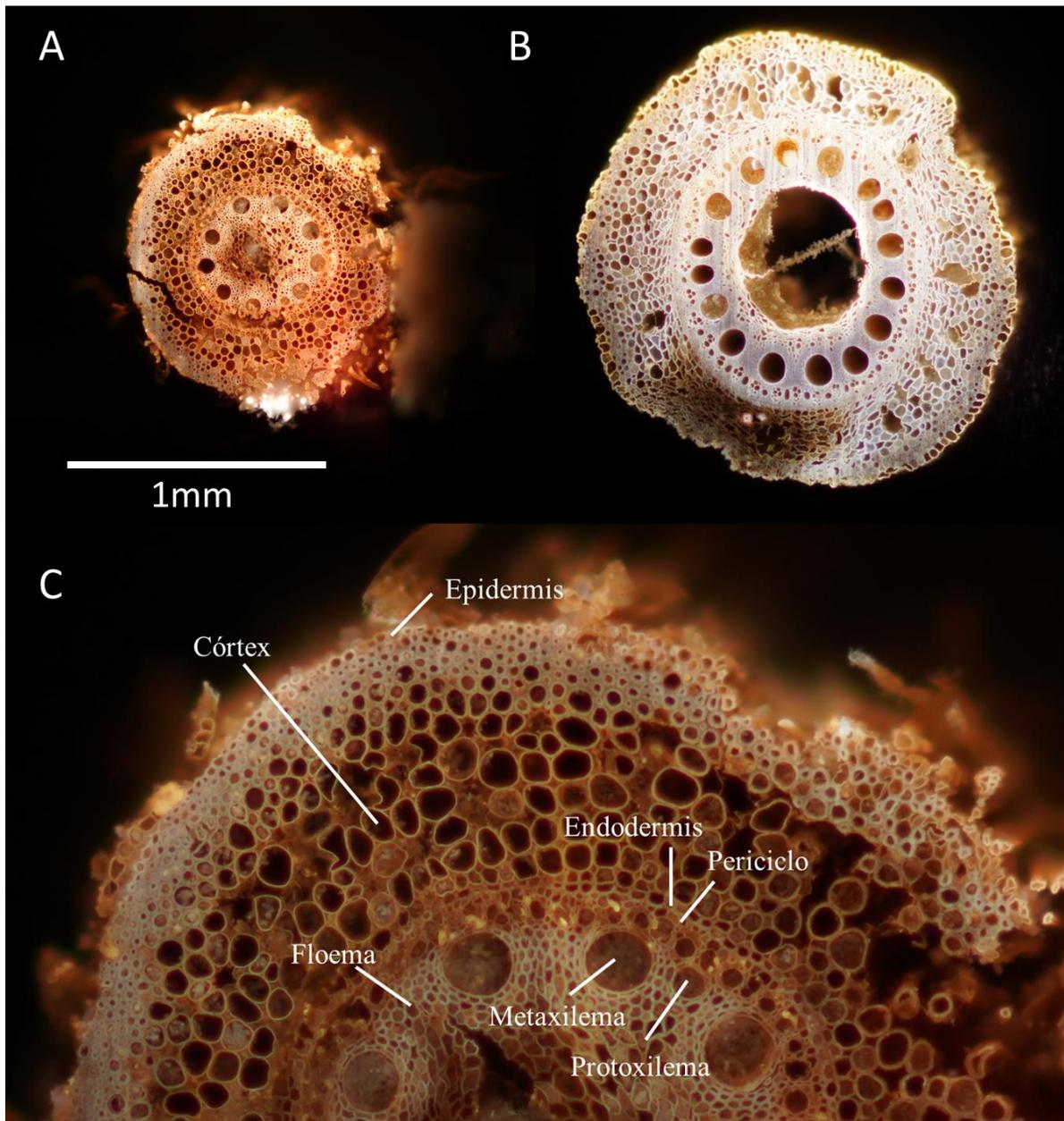


Figura 14: Anatomía celular interna de raíces antiguas. A) Espécimen A: raíz de maíz semi-domesticado que data de 5,280 a 4,970 BP encontrado en la cueva San Marcos, Tehuacán, Pue. (Vallebuena-Estrada *et al.*, 2016). B) Espécimen B: raíz de maíz que data de 233 a 60 BP encontrada en la cueva El Morro, Aramberri, N.L. (Rivera, 2016). C) Componentes de la anatomía radicular del espécimen A. (Barra de escala, 1 mm).

Tabla 3: Rasgos de anatomía radicular de las muestras antiguas A (San Marcos) y B (El Morro). Los promedios obtenidos para los teocintles (*Zea spp.*) y las razas de maíz (*Zea mays subsp. mays*) fueron reportados en Burton, (2013). *Zea spp.* incluye *Zea mays ssp. parviglumis*, *Zea mays ssp. mexicana*, *Zea mays ssp. huehuetenangensis*, *Zea perennis*, *Zea luxurians* y *Zea nicaraguensis*.

		<i>Teocintles</i> <i>n=61</i>	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>Razas de maíz</i> <i>n=195</i>
<u>Rasgos de Anatomía</u>		<u>promedio ±</u> <u>d.s.</u>			<u>promedio ± d.s.</u>
Abreviación	Descripción				
<i>RXSA</i>	Área de la sección transversal, (mm ²)	0.966 ± 0.280	0.95	2.28	0.966 ± 0.258
<i>TCA</i>	Área cortical total, (mm ²)	0.727 ± 0.211	0.74	1.43	0.708 ± 0.187
<i>TSA</i>	Área de estela total, (mm ²)	0.239 ± 0.075	0.22	0.85	0.258 ± 0.079
<i>AA</i>	Área de aerénquima, (mm ²)	0.057 ± 0.058	0	0.07	0.051 ± 0.047
<i>%A</i>	Porcentaje de aerénquima	6.57 ± 5.34	0	4.89	6.49 ± 5.25
<i>CCA</i>	Área de las células corticales (mm ²)	0.671 ± 0.177	0.25	0.57	0.658 ± 0.167
<i>XVA</i>	Área de los vasos de Xilema, (mm ²)	0.039 ± 0.010	0.03	0.12	0.053 ± 0.019
<i>#CC</i>	Número de células corticales	595.7 ± 134.5	1346	2454	596.00 ± 141.0
<i>#CF</i>	Número de filas de células corticales	10.04 ± 0.98	13.67	18.67	9.96 ± 1.09

A y B son los especímenes antiguos que se ilustran en la Figura 12.

4.4 Comparación de rasgos de arquitectura y anatomía radicular entre las muestras antiguas y raíces actuales del género *Zea*.

En la Figura 15A se muestra una comparación de los valores del área de la estela y el área de la sección transversal para 61 poblaciones actuales de teocintle, 195 razas actuales de maíz y las muestras antiguas. Se incluyeron valores para dos líneas endogámicas (Mo17 y B73) como controles de variedades de maíz mejoradas (Burton *et al.*, 2014). Al comparar al teocintle y maíz actual, se observa una correlación entre el área de la sección transversal y el área de la estela, en la que conforme incrementa el área de la estela, incrementa el área de la región transversal. Las distribuciones de los valores para teocintle y maíz son bastante similares, por lo que se observa un traslape; el espécimen A se encuentra dentro de dicho rango.

En la Figura 15B se muestran los valores del área del xilema y el área de la estela. Se observa una tendencia de ciertos maíces a tener un área de xilema superior al de los teocintles,

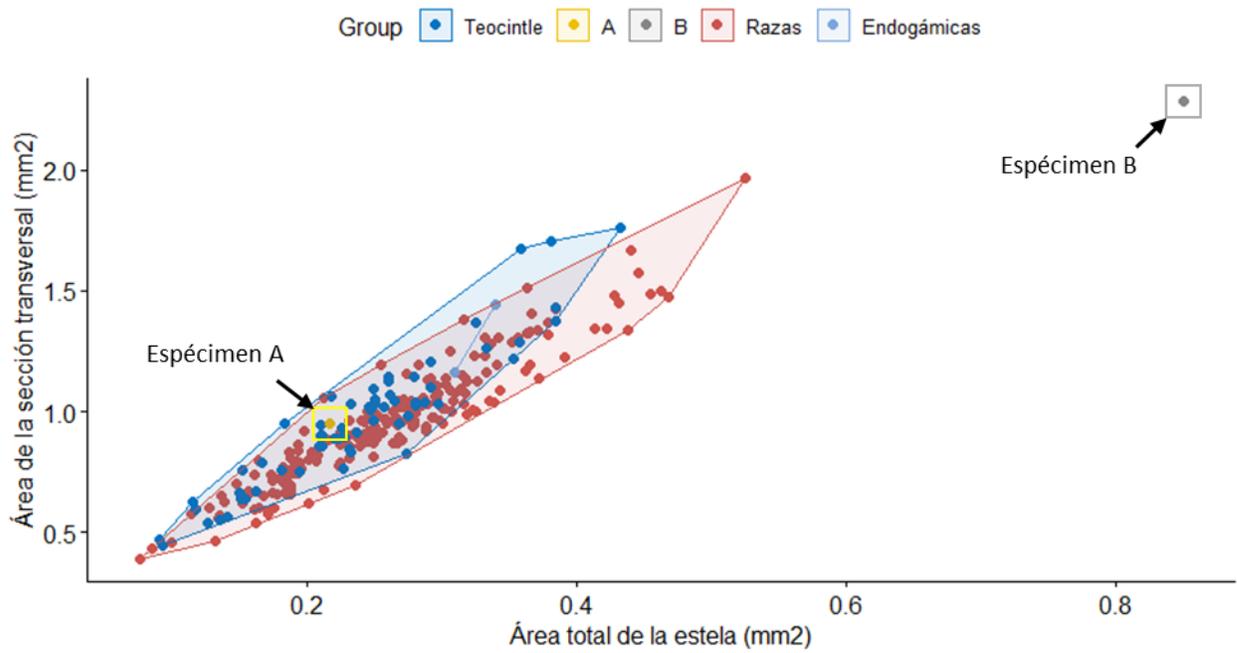
mientras que para el resto de los valores la distribución se traslapa. El espécimen antiguo A se encuentra en la región donde se traslapan ambas distribuciones, por lo que utilizando estos rasgos no es posible asignar al espécimen A en un solo grupo.

En la Figura 15C se muestra la distribución de los valores del diámetro del tallo y el diámetro del sistema radicular. De forma general, los maíces tienen una tendencia a tener valores superiores para ambos rasgos; sin embargo, existe una porción de la distribución donde se traslapan los valores de teocintles y de maíces. El espécimen A se agrupa en los rangos exclusivos de los teocintles. El espécimen B se ubica en la región ocupada por valores exclusivos de maíz. Los especímenes antiguos C a I y J a N se encuentran en la región donde la distribución de los teocintles y de los maíces se traslapa, con cierta tendencia hacia los rangos que corresponden a los teocintles.

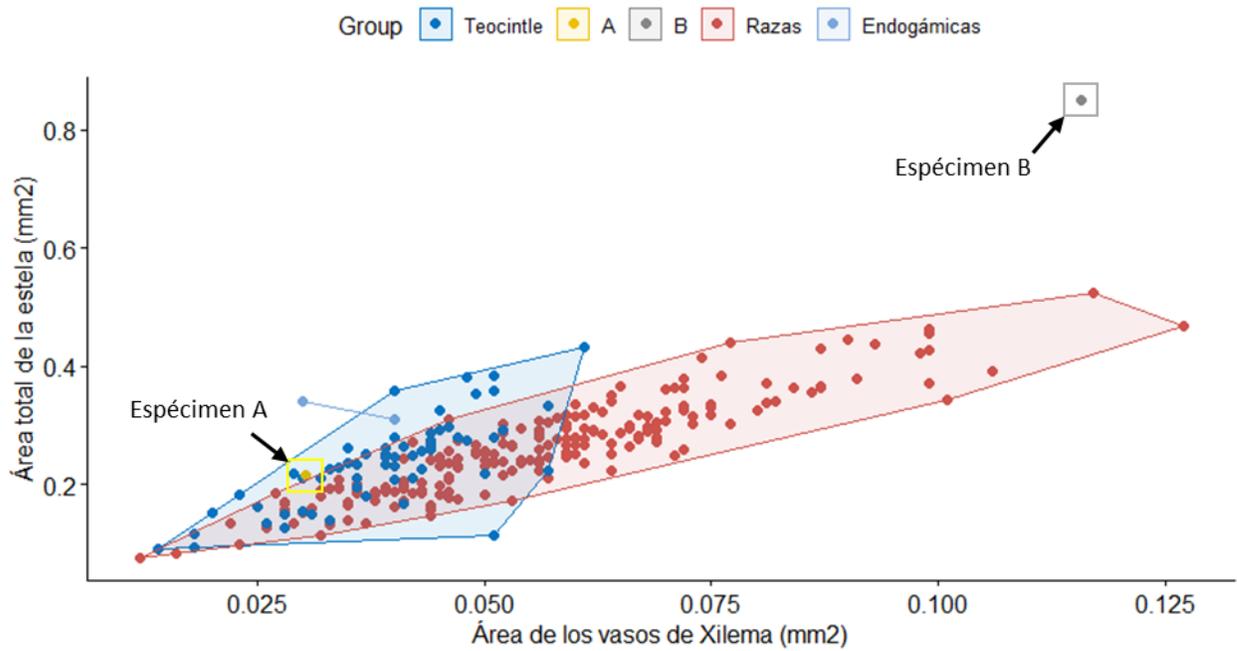
En el caso del diámetro del sistema radicular, el espécimen A muestra un valor de 23.5 mm que corresponde a un diámetro representado tanto en la distribución de teocintle como de maíz. En cambio, para el diámetro del tallo, el valor de A fue de 11 mm, que corresponde a un rango menor que es característico de teocintle y no de maíz. Las mediciones por Burton *et al.*, (2013) fueron realizadas siguiendo la misma metodología que la utilizada en este estudio; sin embargo, se debe considerar que los especímenes pudieron deteriorarse con el tiempo y alterar su forma y por ende la medición de ambos parámetros.

En la Figura 15D se muestran los valores para el número de raíces seminales y el número de raíces coronarias. Se aprecia una diferencia clara en los rangos de número de raíces seminales que tiene el teocintle y el maíz. Mientras que los teocintles oscilan entre 0 y 2 raíces seminales, los maíces tienen de 2 a 7. El único espécimen antiguo que presenta un sistema radicular embrionario fue D. De forma interesante, no se encontró rastro de alguna raíz seminal, por lo que D claramente se agrupa en el rango del teocintle.

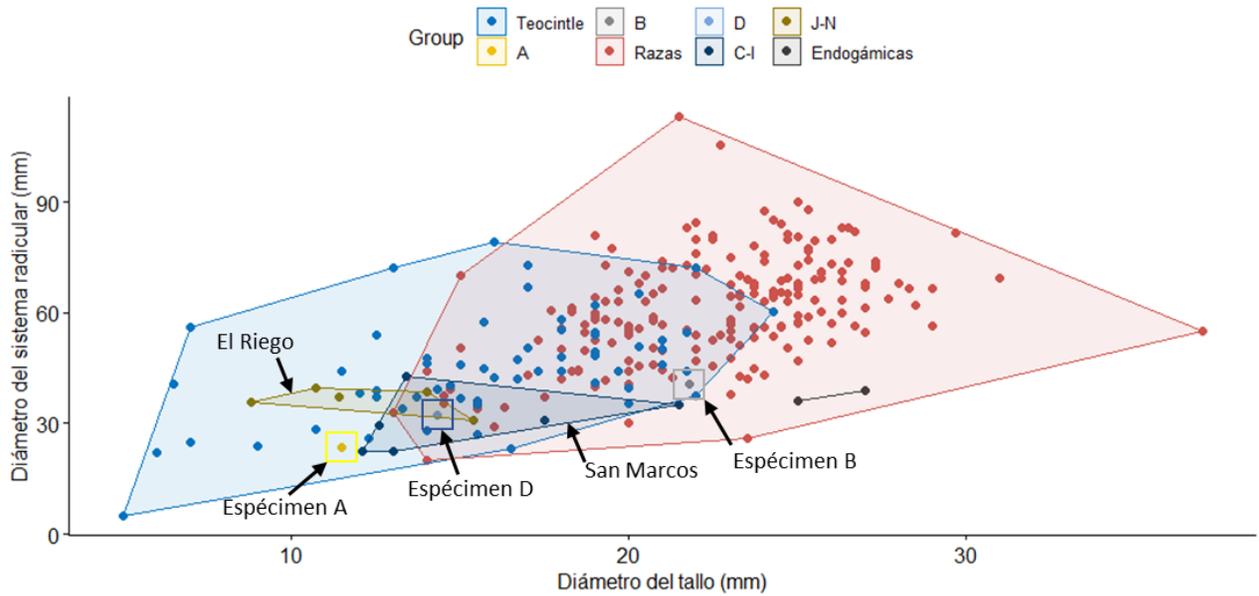
A Área total de la estela vs Área transversal



B Área de los vasos de Xilema vs Área total de la estela



C Diámetro del tallo vs Diámetro del sistema radicular



D Número de raíces coronarias vs Número de raíces seminales

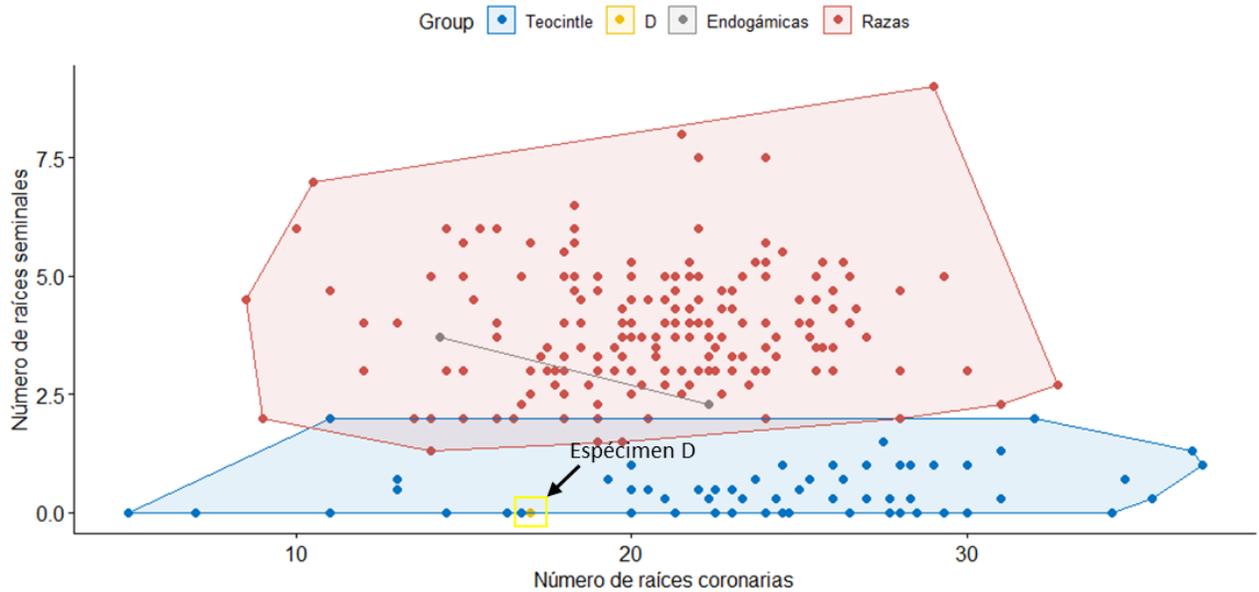


Figura 15: Comparación de la anatomía (A y B) y arquitectura (C y D) de la raíz de maíz, teocintle y especímenes antiguos. Los datos de teocintles y maíz actual se tomaron de Burton *et al.*, (2013); Burton et al. (2014). A) Comparación del área de la estela contra el área de la sección transversal. B) Comparación del área del xilema contra el área de la estela. C) Comparación del diámetro del tallo contra el diámetro del sistema radicular. D) Comparación del número de raíces coronarias contra el número de raíces seminales. A a N especímenes antiguos presentados en la Figura 12.

4.5 Simulaciones del crecimiento y absorción de nutrientes de la raíz antigua, maíz y teocintle actual.

Para predecir el comportamiento funcional de los especímenes A y D (5280 a 4956 BP) provenientes de San Marcos, se utilizó el modelo predictivo OpenSimRoot, considerando como valores paramétricos para alimentar el modelo; 0 raíces seminales y 16 coronarias para A, y 0 raíces seminales y 17 coronarias para D (Tabla S1). También se crearon simulaciones utilizando valores correspondientes a 61 teocintles, 195 razas de maíz y dos líneas endogámicas reportados por Burton *et al.* (2013; 2014). Cada simulación se repitió en cuatro condiciones con diferentes concentraciones de nutrientes: alto nitrógeno y fósforo (HNHP), bajo nitrógeno (LN), bajo fósforo (LP) y bajo nitrógeno y fósforo (LNLP). Las concentraciones alta y baja de nutrientes fueron modificadas del trabajo reportado por Rangarajan, (2018) y optimizadas de tal forma que la concentración baja produjera una disminución de al menos el 50% del peso seco de la planta. La evaluación de los sistemas radiculares en diferentes condiciones de carencia de nutrientes podría mostrar si las raíces antiguas presentan una ventaja en condiciones de estrés comparadas con las variedades modernas.

En la Figura 16 se muestran los valores del peso seco simulado bajo los cuatro ambientes con base en los parámetros de arquitectura radicular de las poblaciones de teocintle, razas de maíz, líneas endogámicas, el espécimen A y el espécimen D. El peso seco obtenido para las poblaciones de teocintle en HNHP fue de 9.39 ± 2.13 gr, mientras que para las razas fue de 14.07 ± 1.57 gr (Figura 16). En este caso, las razas de maíz producen una cantidad de biomasa superior a los teocintles y las distribuciones no se traslapan. Para A y D, el simulador predijo un peso seco de 6.87 ± 0.99 y 6.94 ± 0.67 gr, respectivamente. Lo que los ubica estrictamente en el rango de los teocintles. Esto sugiere que la capacidad de absorción de nutrientes de los especímenes A y D es similar a la de los teocintles actuales.

Las simulaciones predicen el crecimiento durante 40 días, lo que generalmente corresponde a una etapa de desarrollo V11-V12. Las líneas endogámicas, que representan ejemplos de variedades mejoradas, tienen una distribución similar a la de las razas de maíz. Bajo carencia simulada de nitrógeno y/o fósforo, se observa una tendencia a la disminución de la cantidad de biomasa en todos los casos. El sistema radicular de maíz es más eficiente para la

producción de biomasa que el de los teocintles, incluso cuando existe carencia de fósforo y/o nitrógeno (Figura 16).

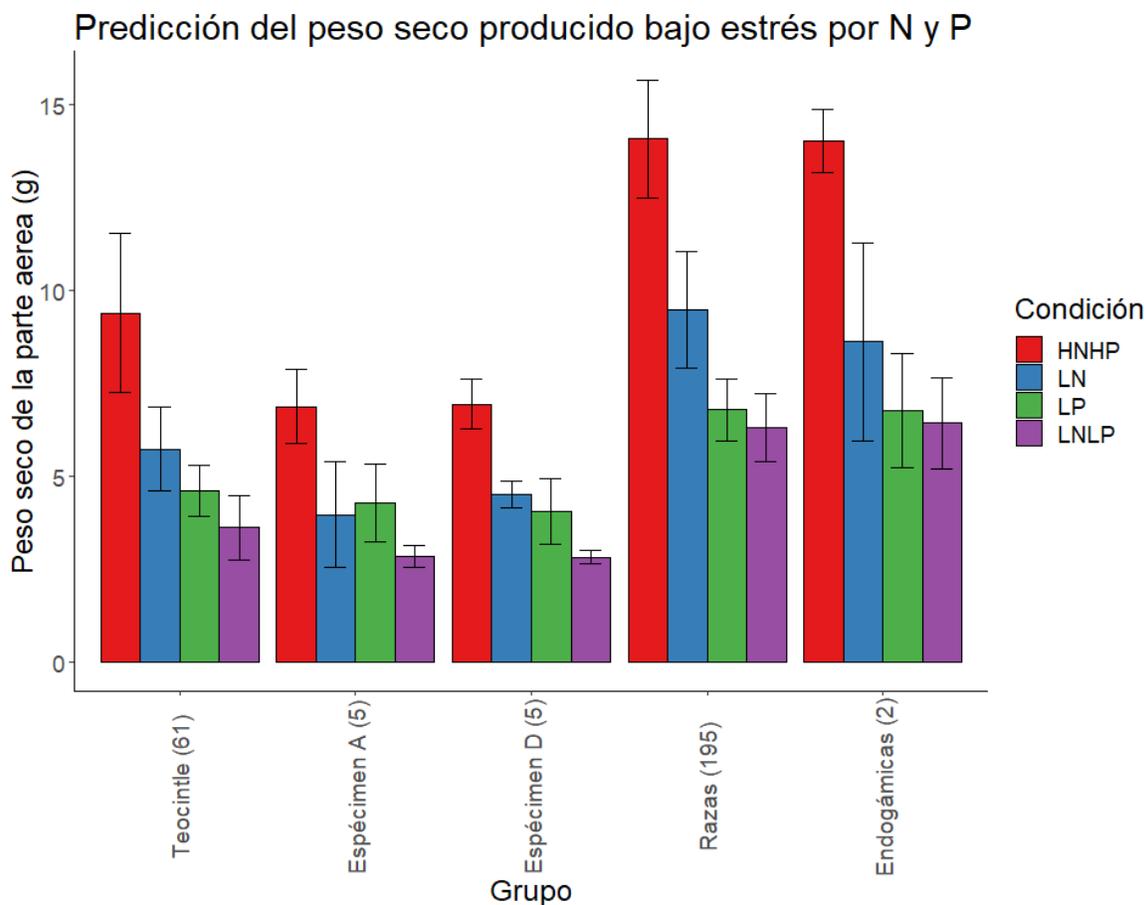


Figura 16: Predicción del peso seco producido a los 40 días con base en modelización de la estructura radicular de 61 teocintles, 195 razas de maíz, 2 líneas endogámicas y cinco réplicas del espécimen A y el espécimen D (5280 a 4956 BP, San Marcos). Las simulaciones se llevaron a cabo considerando 4 condiciones de disponibilidad de nutrientes (N y P). Las condiciones son: alto nitrógeno y fósforo (HNHP), bajo nitrógeno y alto fósforo (LN), alto nitrógeno y bajo fósforo (LP) y bajo nitrógeno y fósforo (LNLP). Las concentraciones correspondientes para alto y bajo fósforo/nitrógeno fueron modificadas de Rangarajan *et al.* (2018).

4.6 *RUM1*: un gen posiblemente involucrado en rasgos domesticatorios de raíz.

Para conocer si la versión alélica del gen *RUM1* del espécimen A era semejante a teocintle o a maíz se realizaron topologías de tipo filogenético (Figura 17) utilizando los métodos UPGMA, Neighbor-Joining y de evolución mínima. En los tres árboles se muestra que los teocintles y los maíces se agrupan en clados distintos. En los tres árboles el teocintle mexicana (TIL08) forma un sub-clado con respecto a los teocintles *parviglumis* (TIL10, TIL12 y TIL15), lo que concuerda con su historia evolutiva. En la Figura 17A (método UPGMA) se observa que las muestras antiguas se agrupan con los maíces. Por otra parte, los

árboles de la Figura 17B y 17C - obtenido con el método de Neighbor-Joining y de evolución mínima, respectivamente -, se observa que las muestras antiguas se agrupan en el clado de los teocintles.

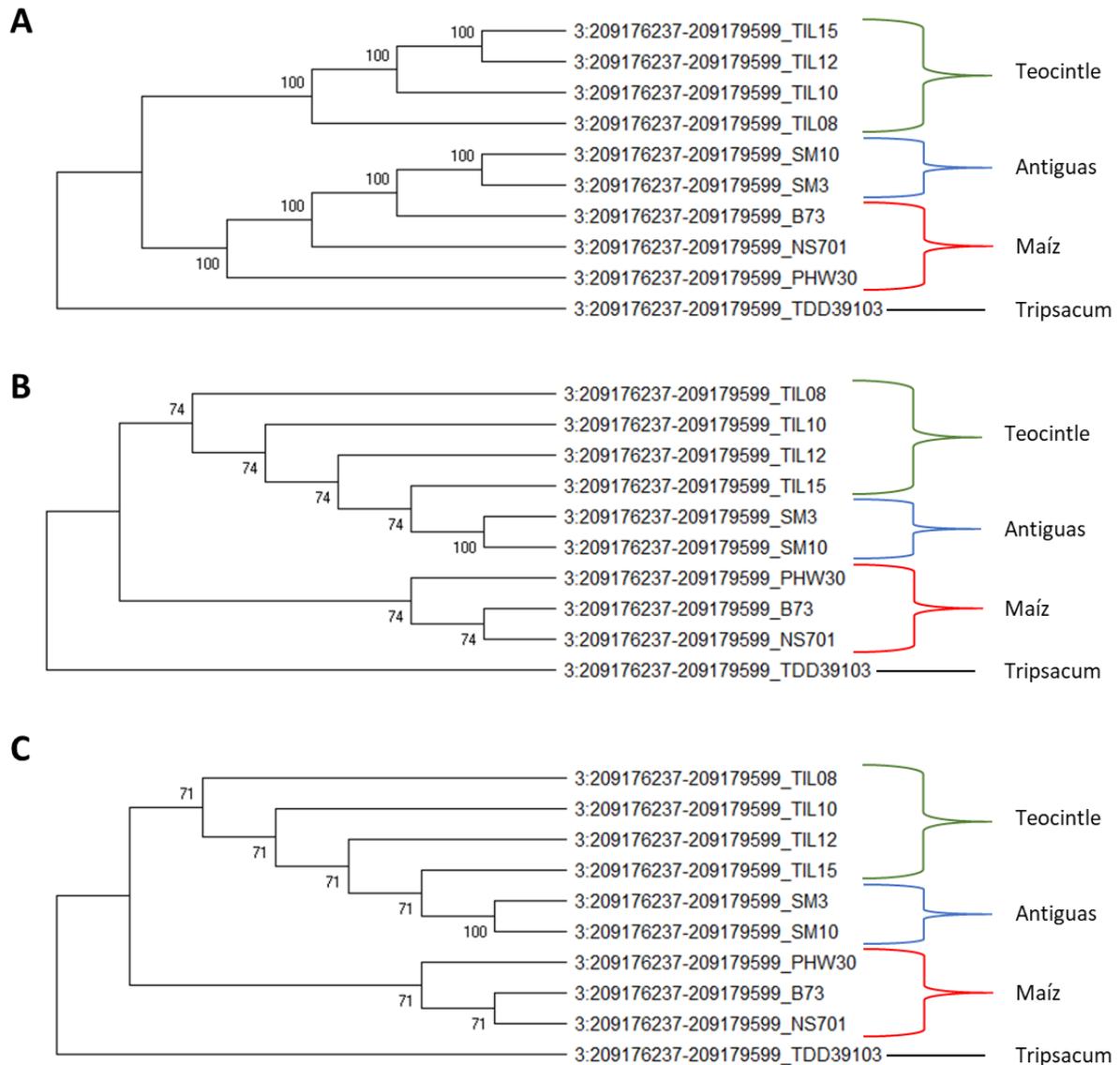


Figura 17: Topologías de tipo filogenético generadas por A) Método UPGMA B) Método de Neighbor-Joining C) Método de evolución mínima.

La Figura 18 muestra el árbol generado a partir del método de máxima verosimilitud. En este árbol no se observa una divergencia clara entre teocintles y maíces. En la figura 18A se muestra una topología obtenida a partir de un valor de bootstrap de 100, mientras que la Figura 18B muestra resultados a partir de valores de bootstrap de 1000. En ambas topologías

el valor de Bootstrap es menor de 70 %. El análisis topológico de *RUMI* bajo el método de máxima verosimilitud no permite explicar las relaciones evolutivas dentro del género *Zea* y por lo tanto no se considera fiable.

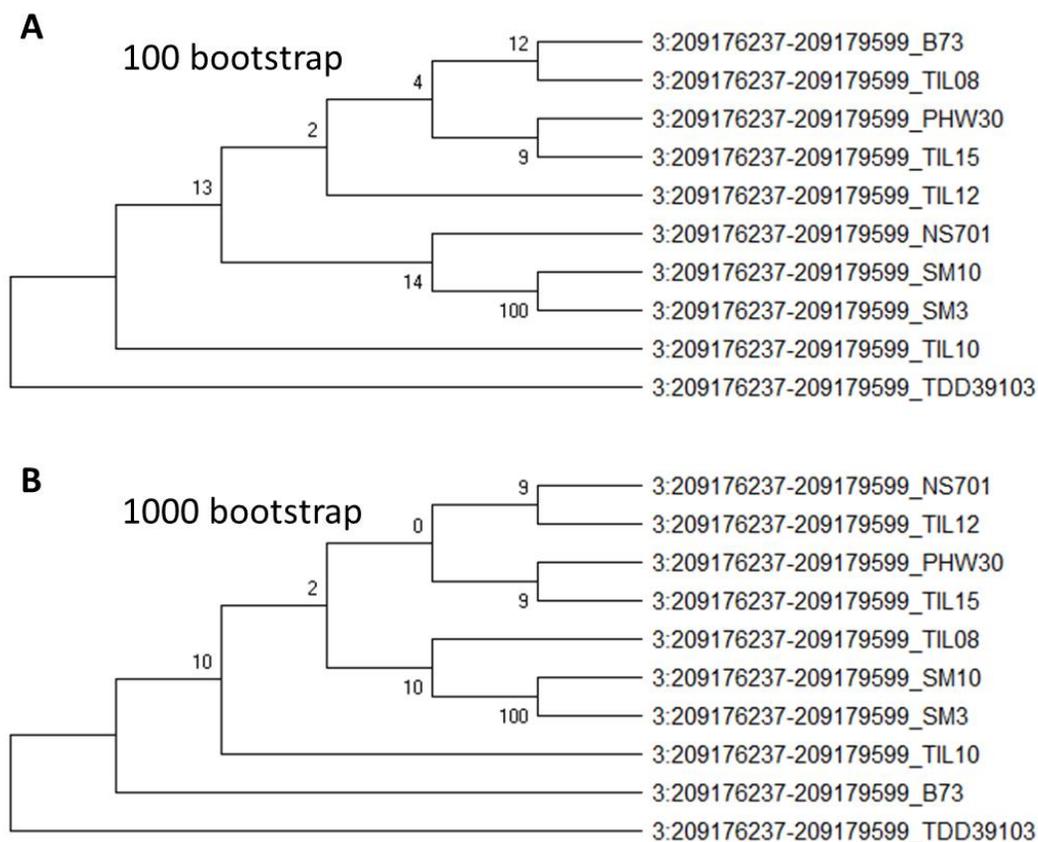


Figura 18: Topología de tipo filogenético utilizando el método de máxima verosimilitud con un valor de bootstrap de A) 100 y B) 1000.

Según la definición de Berry (1996), el valor de bootstrap de un clado es la proporción de veces que ese clado es representado en una serie de árboles y se puede pensar como la evaluación de confianza de un clado dado. Hillis *et al.*, (1993) proponen que un valor de bootstrap superior al 70 % es un nivel aceptable de confianza. Los clados de las filogenias de la Figura 17 presentan un bootstrap superior al 70 %, por lo que consideramos aceptable la representación de las relaciones evolutivas entre esos individuos. En la Figura 18 los valores de bootstrap están muy por debajo del valor aceptable debido posiblemente a la carencia de SNP en las muestras SM3 y SM10.

5 DISCUSIÓN.

El maíz tiene su origen en la cuenca del río Balsas y divergió de su ancestro silvestre teocintle *parviglumis* hace cerca de 9000 años (Matsouka *et al.*, 2012). Se han estudiado ampliamente los componentes genéticos que regulan los principales rasgos de domesticación de la parte superior de la planta (Doebley, 2004; Stitzer *et al.*, 2018). Sin embargo, poco se sabe sobre el impacto de la domesticación en el sistema radicular. En este trabajo se caracterizó la arquitectura y anatomía radicular de especímenes arqueológicos de maíz (provenientes del Valle de Tehuacán, Pue. y Arramberri, N.L.) y se comparó con los valores reportados para poblaciones de maíz y teocintle actual.

Los valores de anatomía obtenidos para el espécimen A se agrupan mayormente en las distribuciones de teocintle; sin embargo, estos valores no permiten la separación total entre teocintles y maíces pues presentan distribuciones que se traslapan, lo que hace difícil relacionar con fiabilidad a los especímenes antiguos en alguno de estos grupos. En cambio, las distribuciones de la arquitectura mostraron una diferencia significativa entre teocintle y maíz en el número de raíces seminales. Únicamente fue posible determinar el número de raíces seminales en el espécimen D. La ausencia de raíces seminales en D es propia solo de la arquitectura radicular del teocintle, lo que sugiere que el sistema radicular de este espécimen se parecía más al de teocintle. Además, un análisis predictivo de la capacidad de absorción de nutrientes basado en dos rasgos de la arquitectura radicular mostró que el comportamiento del espécimen D es más similar a teocintle. Finalmente, un análisis topológico de tipo filogenético utilizando el gen *RUMI* (asociado al desarrollo de raíces seminales) sugiere que la versión alélica del espécimen A corresponde a la versión presente en teocintle. Sin embargo, aún se requieren estudios de paleogenómica para determinar la constitución genética del espécimen D.

5.1 Reconstrucción tridimensional de raíz antigua.

Utilizando la técnica de tomografía por ablación laser fue posible crear reconstrucciones tridimensionales de segmentos del segundo, tercero y quinto nodo de especímenes antiguos de maíz provenientes del Valle de Tehuacán, Pue. y de Arramberri, N.L. (ver película S1-S4 en el DVD anexo). Dicha reconstrucción permite observar la anatomía radicular interna a detalle donde se puede apreciar el interior de los haces de xilema y floema, la medula y el

córtex, así como el grado de conservación de los tejidos. Esta técnica tiene un gran potencial en el campo de la paleobotánica, debido a que permite reconstruir la estructura interna de alguna muestra de interés, analizar sus componentes a una resolución micrométrica y comparar con muestras actuales. La desventaja de utilizar esta técnica es que involucra la vaporización del tejido, cosa que no es conveniente cuando se tienen muestras invaluableles.

5.2 Anatomía.

Los valores obtenidos para los rasgos anatómicos del espécimen A se encuentran dentro de las distribuciones de teocintle y maíz para todos los rasgos, a diferencia del espécimen B, el cual presenta valores muy superiores a los reportados para el género *Zea*. Esto puede deberse a que el sistema radicular del espécimen A tiene 5 nodos desarrollados, lo que correspondería a una etapa de desarrollo V7-V8 (Gao *et al.*, 2016; Sun *et al.*, 2018; Endicott *et al.*, 2015). En el caso del espécimen B, se presentan 9 nodos, por lo que esta planta había alcanzado al menos la etapa V12 (Ransom J. 2013). Los datos de maíz y teocintle utilizados para las comparaciones fueron obtenidos en la etapa V6-V7 (Burton *et al.*, 2013), por lo que es posible que el área de la sección transversal en B corresponda a un estado más avanzado de desarrollo. En el caso del espécimen A, la etapa de desarrollo concuerda con la reportada en el panel de diversidad fenotípica de Burton *et al.* (2013) (Tabla 3), por lo que es posible hacer un análisis comparativo de la anatomía radicular de esta muestra, con respecto a muestras actuales.

Las distribuciones para los valores de área de sección transversal y área del córtex son bastante similares en las poblaciones de maíz y teocintle, y los valores del espécimen A se encuentra dentro de los rangos de ambas distribuciones (Figura 15A, Tabla 3). Por otro lado, los valores para el área de la estela y el área del xilema son mayores para una porción de la población de maíz, mientras que la otra porción tiene valores similares a teocintle. De forma interesante, el espécimen A se agrupa en la parte de la distribución que se comparte entre teocintles y maíces. El área de xilema está relacionada con la capacidad de transporte de agua y nutrientes. De acuerdo con la ley de Poiseuille, la tasa de flujo de un fluido incompresible a través de un cilindro es proporcional a la cuarta potencia del radio del cilindro (Burton, 2010). Por lo tanto, un incremento relativamente pequeño en el diámetro de un haz vascular resulta en un incremento exponencial de la conductividad hidráulica dentro del xilema. Se ha

sugerido que la tendencia a tener un área de xilema mayor en la población de maíces se debe a que durante la domesticación se seleccionaron genotipos que estuvieran mejor adaptados al transporte de fluidos, abasteciendo así de manera más eficiente los tallos de las razas de maíz (Burton, 2010; Burton *et al.*, 2013). La disponibilidad de agua mediante un sistema de riego pudo haber motivado la selección para este rasgo, mientras que un ambiente seco hubiera favorecido a los genotipos con un área de xilema menor, mejor adaptado para evitar la pérdida de agua (Passioura, 1972; Richards *et al.*, 1981).

El espécimen A tiene un área de xilema más pequeña que la de las muestras actuales de maíz (Figura 15B). Podríamos especular que el incremento en el área de los haces vasculares fuera un rasgo que se seleccionó posterior a los 5000 años, lo que explicaría que este espécimen tuviera un área pequeña. Sin embargo, una porción de la población de maíz conserva haces vasculares pequeños, posiblemente como una adaptación al estrés hídrico. Por lo tanto, existe la posibilidad que este rasgo ya hubiera estado sujeto a selección parcial hace aproximadamente 5000 años.

Respecto al espécimen B, existe la posibilidad de que su poca similitud a las raíces del panel de diversidad de Burton *et al.*, (2013) se deba a que es una gramínea distinta al género *Zea*. Para confirmar su identidad como maíz sería necesario realizar una extracción y análisis de ADN antiguo y comparar con la información genómica del maíz actual.

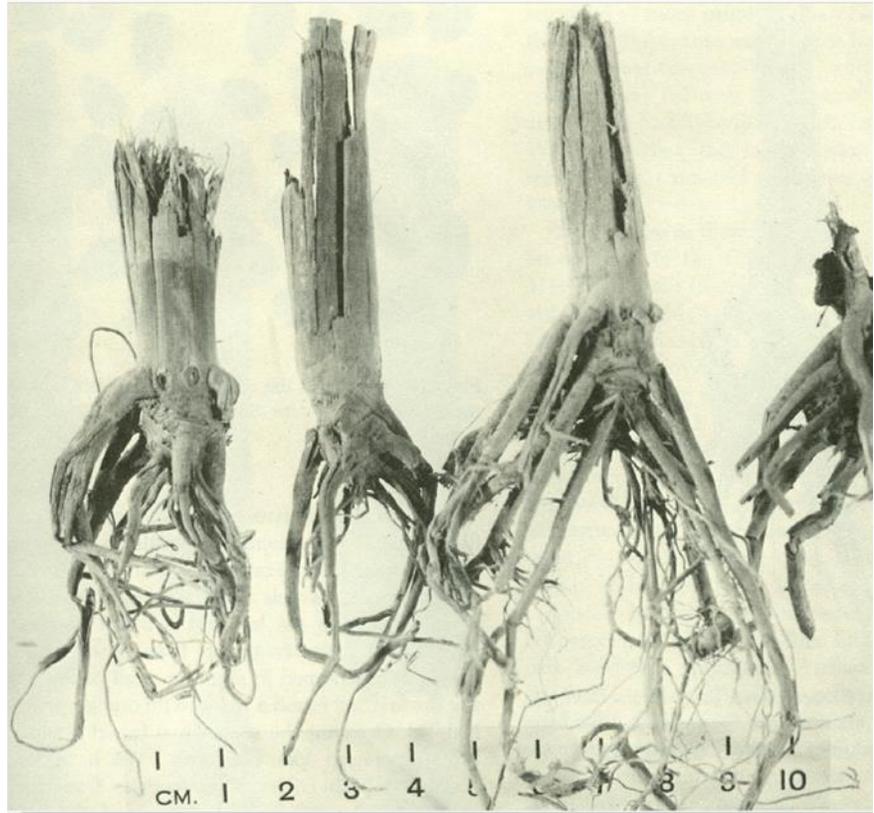
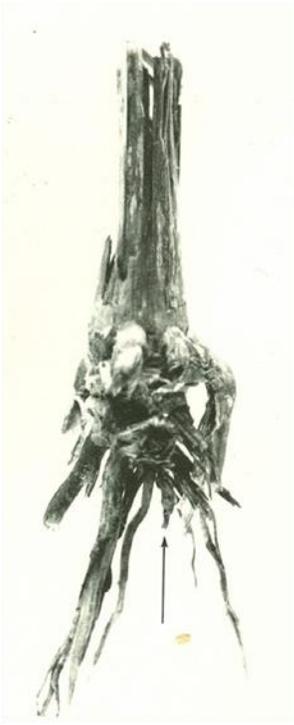
Es interesante que en el espécimen A, el número de células corticales es de 1346, mientras que el reportado para maíces y teocintles es de 596 ± 141 y 595.7 ± 134.5 , respectivamente. Por otro lado, el tamaño de las células del espécimen A es de 0.25 mm^2 , y en maíces y teocintles es de 0.658 ± 0.167 y $0.671 \pm 0.177 \text{ mm}^2$, respectivamente. Esto podría atribuirse a que, en los bordes del córtex, cerca de la epidermis (Figura 14), las células presentan un encogimiento y brillan, como si a través del tiempo los minerales del suelo fueran remplazando y reduciendo el espacio de las células y emitieran un haz de luz cuando interactúan con el láser. Este fenómeno podría introducir un sesgo en las mediciones del área del córtex y área de la sección transversal, en donde posiblemente el espécimen A tenía un área de córtex mayor, pero debido al encogimiento se mide un tamaño relativamente menor. Este fenómeno no se observa en los haces del xilema ni en la estela, lo que hace posible utilizar estos parámetros para las comparaciones fiables con teocintle y maíz actual.

5.3 Arquitectura.

5.3.1 Diámetro del tallo.

Los valores para el diámetro del tallo de todos los especímenes corresponden a un rango de la distribución de teocintle que se traslapa con la de maíz (Figura 15C). Es interesante que los especímenes D, E, G e I (Figura 12) fueron analizados en la década de los sesentas por MacNeish y sus colaboradores. En su análisis mostraron que el diámetro del tallo de cuatro especímenes fue de 12, 11, 17 y 10 mm. Los especímenes E y G (Figura 12E y Figura 12G) coinciden con dos de las medidas reportadas por MacNeish (Tabla 2). Mientras que los especímenes G, I, E y D coinciden con las fotos de raíces reportadas en su trabajo original (Figura 19) publicado en 1967 (MacNeish, 1967). Así mismo, MacNeish reportó que las raíces que encontró eran más pequeñas comparadas con variedades agrícolas y con algunas razas primitivas de Colombia, Pollo y Pira, que oscilan entre 21.8-24.2 y 21.6-24.1 mm, respectivamente. Los datos de MacNeish coinciden con los datos reportados en la Figura 15C donde todos los especímenes antiguos son más pequeños cuando se les compara con la mayoría de las razas de maíz en el panel de diversidad de Burton *et al.* (2013). Es importante destacar que, en 1967, no se contemplaba con debida seriedad la posibilidad de que el teocintle *parviglumis* fuese el ancestro directo del maíz.

1967



2019



Figura 19: Comparación de las raíces reportadas por MacNeish con las utilizadas en este estudio. En la parte superior se muestran las raíces descritas por MacNeish, (1967). En la parte inferior se muestran las raíces utilizadas en este estudio. La arquitectura radicular de los especímenes de 1967 y 2019 es la misma. El orden de los especímenes de los especímenes de izquierda a derecha es G, I, E y D.

5.3.2 Número de raíces coronarias.

Como se mencionó en los resultados, los especímenes A, G, H, I y J tenían cinco nodos, y las muestras C, D, E, F, L, M, N tenían seis nodos (Tabla S2), que corresponden a una etapa de desarrollo V7-V8. La etapa V7-V8 es antes de que la planta desarrolle las inflorescencias femenina y masculina. Lo que sugiere que quizá el interés de utilizar estas plantas no era el grano sino otro rasgo de la planta de maíz.

Hugh Iltis propuso la teoría de que el ancestro del maíz no fue domesticado inicialmente por el grano, sino por el tallo y otros órganos de la planta; posiblemente para utilizarlos como fuente de azúcares (Iltis, 2000). Esta teoría se ve reforzada con las evidencias arqueológicas del Valle de Tehuacán; las cuales muestran que en las fases más antiguas hay una porción mayor de restos de tallo masticado comparado con las fases más tempranas (Smalley *et al.*, 2003). Por otra parte, el espécimen D cuya antigüedad oscila entre 5280–4956 BP, nos brinda una evidencia extra, donde se observa que el color y la forma de la semilla es similar a la de teocintle, lo que sugiere que aún conservaba la gluma externa (Figura 13). Y a su vez, el análisis de ADN antiguo del espécimen A, muestra que el gen *tb1* (encargado de la ramificación del tallo), se domesticó primero que el gen *tg1* (encargado de la cubierta de la semilla) (Vallebuena-Estrada *et al.*, 2016).

Al contrario, el espécimen B (El Morro) tenía nueve nodos y el K (El Riego) tenía siete. Las raíces de estos últimos nodos corresponden a raíces de abrazadera, las cuales se desarrollan en las etapas V12-V15 (Ransom, 2013). Por lo que, a diferencia de las anteriores, las muestras B y K parecen haber sido utilizadas en una etapa más tardía de su desarrollo, por lo que es más probable que el grano fuera el rasgo de interés para cosechar estas plantas. El espécimen B oscila entre 233 – 60 BP y el K se desconoce su fecha exacta, sin embargo, todas las raíces de esa cueva oscilan entre 1714-1412 BP, por lo que posiblemente tiene una edad similar.

La evidencia categórica para sustentar que el grano no fue el interés inicial por el cual se domesticó el maíz sería que los especímenes de la cueva El Riego (1714-1412 BP) tuvieran mayor número de nodos comparados con los especímenes de la cueva San Marcos (5280-4080 BP), de forma que se podría sostener la hipótesis de que en temporalidades más antiguas se utilizaban las plantas en etapas anteriores a la floración. Sin embargo, de los cinco especímenes de la cueva El Riego, únicamente la muestra K tiene un número mayor de nodos,

y los demás especímenes son bastante similares a los San Marcos en el número de nodos. Las evidencias de este trabajo no son suficientes para determinar si el interés de cultivar estas plantas era el grano u otro órgano, por lo que se requiere más información y estudios para poner a prueba de manera directa dicha hipótesis.

5.3.3 *Número de raíces seminales.*

La distribución de los valores para número de raíces seminales presenta una diferencia clara entre poblaciones de teocintle y maíz (Figura 15D), donde el valor promedio para la población de teocintle es de 0.5 ± 0.5 y para la de maíz de 3.90 ± 1.3 (Tabla 2). Mangelsdorf, (1974) y MacNeish, (1967) mencionan que encontraron una raíz con el sistema radicular embrionario completo, el cual es probable que coincida con el único espécimen que presenta un sistema radical embrionario reportado en este trabajo (Figura 13D). Los autores postulan que el sistema radicular embrionario se desarrolla en fases tempranas de la planta y desaparece una vez que se establece el sistema de raíces post-embrionario, excepto en unas variedades de maíz resistentes a sequía del suroeste de los Estados Unidos en las que el sistema radicular embrionario permanece en toda la vida de la planta y le permite el acceso al agua en las partes profundas del suelo. Sin embargo, Mangelsdorf y MacNeish no especifican si el sistema radicular embrionario presentaba raíces seminales, posiblemente porque desconocían que el número de raíces seminales es un rasgo que permite distinguir las poblaciones de teocintle y maíz.

El espécimen D no presenta raíces seminales (Figura 13, Tabla S1), lo que se determinó analizando a detalle la superficie del nodo escutelar, donde no se observó la presencia ni de raíces, ni cicatrices que muestren evidencia de la existencia de estas raíces (Figura 13). Sin embargo, cabe la posibilidad de que, debido al deterioro a través del tiempo, estas cicatrices fueran imperceptibles. La evidencia categórica provendría de una tomografía de ablación laser del segmento del nodo escutelar. Esto permitiría observar si existen conexiones entre la estela y la epidermis a lo largo del nodo escutelar y por lo tanto, determinar la presencia o ausencia de raíces seminales a nivel anatómico. Asumiendo que se confirmara que D no tiene raíces seminales, su fenotipo sería equivalente a las raíces de teocintle actual, sugiriendo que los rasgos de domesticación de las raíces de maíz aún no se fijaban en las poblaciones de Tehuacán hace 5000 años.

Recientemente, un estudio realizado por Golan *et al.* (2018) mostró que en trigo también hubo un incremento del número de raíces seminales durante la domesticación. Realizaron un estudio en el que mostraron que el número de primordios que dan lugar a las raíces seminales era de cinco, tanto en genotipos domesticados como en silvestres. Sin embargo, en los genotipos silvestres solo tres de estos primordios se activan dando lugar a tres raíces seminales, mientras que en los domesticados los cinco primordios están activos, por lo que desarrollan cinco raíces seminales. Sometieron a estrés hídrico ambos tipos de individuos y observaron que dicho estrés produce la muerte celular en todas las raíces activas. Sin embargo, en los genotipos silvestres, los dos primordios inactivos responden al estrés hídrico y desarrollan nuevas raíces seminales que permiten a la planta recuperarse rápidamente durante la rehidratación de la planta (Golan *et al.*, 2018).

Los autores mencionan que la respuesta de los primordios ante el estrés hídrico es una adaptación que se perdió en los genotipos domesticados debido a que los antiguos agricultores sembraban el trigo en las temporadas donde había suficiente humedad. Bajo estas condiciones, el estrés hídrico era menos severo, por lo que eventualmente se perdió el beneficio de suprimir los primordios y se incrementó el número de raíces seminales (Golan *et al.*, 2018).

En maíz se ha propuesto que un bajo número de raíces coronarias es más adecuado para la adquisición de nitrógeno y agua, debido a que al producir menos raíces es posible invertir el carbono en producir raíces más largas, alcanzando las regiones profundas del suelo (Burton, 2010, Saengwilai *et al.*, 2014a, Gao *et al.*, 2016). En paralelo, se ha mostrado que el sistema radicular de teocintle es más largo que el sistema radicular de maíz (Gaudin *et al.*, 2014). Esto podría también ser cierto para las raíces seminales, donde un número bajo de raíces permitiría producir raíces más largas, teniendo las mismas consecuencias con respecto a la exploración de las regiones profundas. Esto tiene sentido en cebada, donde también se ha observado que las variedades silvestres tienen un número de raíces seminales menor comparadas con las domesticadas. Curiosamente, las variedades silvestres tienen raíces más largas y delgadas comparadas con las modernas, por lo cual se ha sugerido que las variedades silvestres están mejor adaptadas a estrés hídrico (Grando, 1995).

Es interesante que en el valle de Tehuacán existe evidencia de la utilización de sistemas de manejo de agua hace miles de años, ejemplos de ellos son el complejo de presas de Purrón, que abarcaban un área aproximada de 36 hectáreas, y la presa más antigua, denominada Tr-15, data de 3,950 BP (Neely *et al.*, 2015). También se han encontrado un complejo de canales que abarcaron 70 km² y los más antiguos datan de 4,990 BP. Estos sistemas fueron utilizados para la irrigación de cultivos como maíz, calabaza, coyol, chupandillo, agave, sapote, aguacate y algodón (Neely, 2016).

Considerando lo anterior, podemos suponer que antes de 5,000 años prevalecía un ambiente con baja disponibilidad de agua, mientras que, en una época posterior, la invención de los sistemas de riego propició la disponibilidad de agua en el valle de Tehuacán. Sería lógico pensar que las poblaciones de maíz que vivieron en épocas tempranas hubieran estado adaptadas a estrés hídrico y por lo tanto tuvieran un menor número de raíces seminales. Esta idea se ve respaldada con el espécimen D, que data de 5280 – 4956 BP y carece de raíces seminales. Suponiendo que en esa época hubieran surgido nuevas variedades de maíz con un número alto de raíces seminales, estas posiblemente no hubieran sobrevivido debido a las condiciones de estrés hídrico. Sin embargo, en épocas posteriores, con la invención de sistemas de riego, tener pocas raíces seminales se vuelve innecesario para sobrevivir mientras que las variedades con mayor número de raíces seminales serían mejores para explorar el suelo, absorber nutrientes y producir más biomasa. Por lo tanto, sería plausible que un alto número de raíces seminales fuera seleccionado de forma indirecta cuando se buscaban plantas más productivas en un ambiente con suficiente agua.

5.4 Modelos predictivos.

Las simulaciones de la absorción de nutrientes y producción de biomasa mostraron que los valores de peso seco de la parte aérea en poblaciones de maíz fueron mayores a la población de teocintle. La simulación de los especímenes A y D mostró que los rangos de absorción están dentro de la distribución de teocintle. Esto sugiere que el incremento en el número de raíces seminales es un rasgo que brinda una ventaja para absorber nutrientes, lo que se traduce en un mejor crecimiento de la planta y por lo tanto mayor producción de biomasa. Esto es cierto para maíz en condiciones de invernadero debido a que un estudio mostró que existe una correlación positiva entre el peso seco de la planta y el número de raíces seminales (Zhu

et al., 2006). Posiblemente este rasgo fue seleccionado de forma indirecta cuando se escogían las plantas más productivas (York *et al.*, 2015). Debido a que el espécimen D carecía de raíces seminales, es probable que hace 5000 años aún no se fijaba este rasgo en las poblaciones de Tehuacán.

El poder del modelo OpenSimRoot ha sido exitoso en la predicción del efecto real de rasgos como el número de raíces seminales, coronarias y el volumen de aerénquima (York *et al.*, 2015, Saengwilai, 2014a; Postma. *et al.*, 2011; Saengwilai, 2014b). Sin embargo, una de las limitaciones al utilizar OpenSimRoot para este estudio es que este modelo ha sido creado con variables estudiadas en maíz y no en teocintle. Actualmente existe poca información sobre las tasas de elongación, ramificación y absorción de nutrientes de la raíz de teocintle, y se desconoce si estas son similares o diferentes a las de maíz. Si fueran distintas, el modelo tendría un sesgo en la absorción de nutrientes y producción de biomasa. En ese caso, sería ideal crear un nuevo modelo predictivo con tasas de crecimiento radicular de teocintle para evitar esta clase de sesgos. A pesar de ello, el hecho de que únicamente variando el número de raíces seminales y coronarias haya producido una diferencia significativa en la distribución de los valores de biomasa predicha para 61 teocintles y 195 razas de maíz es un indicador de que las diferencias en el número de raíces seminales y coronarias tienen un efecto lo suficientemente severo en la absorción de nutrientes *in silico* para crear una plataforma comparativa capaz de distinguir poblaciones de teocintle y maíz.

5.5 RUMI: un posible gen involucrado en rasgos domesticatorios.

Existe un gen llamado *RUMI* que cuando se muta se detiene el desarrollo de raíces seminales en maíz (Woll *et al.*, 2005). Un análisis comparativo de dos líneas de maíz, una con raíces seminales y una con carencia de ellas, mostró que tres QTLs explicaban cerca del 60% de la variación de ese rasgo (Salvi *et al.*, 2016). Uno de estos QTLs se ubica en la vecindad del gen *RUMI* (Behrens *et al.*, 2011). De forma interesante, un análisis preliminar mostró que el gen *RUMI* se encuentra incluido en un segmento de domesticación (GRMZM2G031882) reportado por Hufford *et al.*, (2012). Esto sugiere que el alelo del gen *RUMI* presente en las poblaciones de maíz estuvo sujeto a selección artificial.

En un trabajo anterior, se demostró que el gen *tgal* del espécimen A (SM3) conservaba parte de la diversidad nucleotídica presente en teocintle, mientras que el gen *tbl* había ya perdido

la diversidad nucleotídica y su variante alélica era equivalente a la que predomina en el maíz (Vallebuena-Estrada *et al.*, 2016). La carencia de raíces seminales en el espécimen D es equivalente al rasgo que prevalece en las poblaciones de teocintle, por lo que se esperaría que la diversidad nucleotídica del gen *RUMI* fuera similar a la del teocintle.

Actualmente no se cuenta con ADN antiguo para el espécimen D; sin embargo, un análisis topológico de tipo filogenético utilizando el gen *RUMI* del espécimen A mostró que, cuando se utiliza el método de Neighbor-Joining y de evolución mínima, dicho espécimen se ubica dentro del clado de los teocintles (Figura 17B y 17C). Por el contrario, se agrupa con maíz en el método de UPGMA (Figura 17A). Los criterios que utiliza el método de Neighbor-Joining y de evolución mínima consideran un modelo de evolución molecular específico, a diferencia del UPGMA, que realiza una clasificación numérica con base en las similitudes y diferencias en la secuencia del gen. Por tal motivo, existe una mayor robustez en los métodos de Neighbor-Joining y de evolución mínima para dilucidar relaciones evolutivas. Esto propone que los alelos del gen *RUMI* presentes en las muestras antiguas de Tehuacán se parecían más a las poblaciones de teocintle, sugiriendo que los cambios ocurridos en este gen durante la domesticación del maíz sucedieron en una fecha posterior a los 5000 años. Sin embargo, debido a que solo se lograron obtener 9 SNPs que cubren la región del gen *RUMI* para SM3, es difícil determinar si las variantes alélicas antiguas de *RUMI* en el espécimen A eran más parecidas a las de maíz o a las de teocintle.

Para conocer la versión alélica del gen *RUMI* en el espécimen D se planea realizar una extracción de ADN, secuenciar y comparar su diversidad nucleotídica con razas de maíz y teocintle en varias muestras de maíz con más de 5000 años de antigüedad.

5.6 Similitudes entre los especímenes A y D.

Los especímenes A y D, provienen de la misma zona en la cueva San Marcos, y datan de 5280 a 4970 y 5280 a 4956 BP, respectivamente. Vallebuena-Estrada *et al.*, (2016) mostraron que en tres especímenes distintos provenientes de la cueva San Marcos compartían <95% de las variantes de SNP homocigotos, a diferencia tres individuos de la raza *Cacahuacintle*, en la cual los SNP homocigotos compartidos variaban entre el 12.1 y 13.89 %. Esto sugiere que las poblaciones de maíz de Tehuacán presentaban una alta similitud genética, posiblemente porque estas poblaciones evolucionaron de un número pequeño de poblaciones que quizá se

auto-polinizaban (Vallebueno-Estrada *et al.*, 2016). Dadas las similitudes temporales, geográficas y genéticas entre el espécimen A y D, es probable que también compartieran rasgos radiculares como el número de raíces seminales.

5.7 Selección indirecta sobre la raíz, tempo y modo.

Finalmente, este estudio propone que el incremento del número de raíces seminales es un rasgo que brinda una ventaja en la absorción de nutrientes, y que posiblemente se seleccionó de forma indirecta cuando se elegían los genotipos más productivos. Este tipo de raíz podría estar ausente en los maíces de Tehuacán de hace 5000 años, por lo que se sugiere que ciertos rasgos de domesticación de la raíz pudieron haber sido seleccionados de forma tardía en el proceso de domesticación. Este estudio representa la primera contribución al entendimiento del impacto de la domesticación en la raíz de maíz utilizando raíces antiguas del Valle de Tehuacán.

6 CONCLUSIONES.

- Fue posible hacer una reconstrucción en tres dimensiones de la anatomía radicular de un espécimen de 5280 a 4970 cal BC, proveniente del Valle de Tehuacán.
- La ausencia de raíces seminales en el espécimen antiguo sugiere que este rasgo de domesticación aún no se fijaba en las poblaciones de Tehuacán hace 5000 años.
- La capacidad de absorción de nutrientes *in silico* de las raíces de maíz es superior a la de los teocintles.
- La capacidad de absorción de nutrientes *in silico* de la raíz antigua de Tehuacán se ubica en la distribución de los teocintles.
- Conocer los rasgos de arquitectura y anatomía radicular de especímenes antiguos de maíz es valioso para distinguir entre fenotipos silvestres y domesticados, así como para predecir su capacidad de absorción de nutrientes.

7 PERSPECTIVAS.

- Hacer una reconstrucción tridimensional del segmento del nodo escutelar para confirmar la ausencia de raíces seminales.
- Medir y analizar los rasgos de anatomía radicular del espécimen que presenta sistema radicular embrionario (especimen D).

- Extraer ADN antiguo de los especímenes de raíz y analizar la diversidad nucleotídica del gen *RUM1*.

8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Aitken M. (1990) Science-based dating in archaeology. Longman London and New York. 64(245):963-964
- Arshad Z, & Zahidullah M. (2010) The diversity of grasses in the Gandgar Range, northwest Pakistan. *ICBIOUR-LIFE*. 29-31.
- Beadle, G. (1939) Teosinte and the origin of maize. *J. Hered.* 30:245-247.
- Beadle, G. (1972) The mystery of maize. *Field Mus. Natl. Hist. Bull.* 43:2-11.
- Behrens V, Komatsu M, Zhang Y, Berendzen KW, Niu X & Sakai H. (2011) Rootless with undetectable meristem 1 encodes a monocot-specific AUX / IAA protein that controls embryonic seminal and post-embryonic lateral root initiation in maize. *The Plant Journal*. 66(2):341–353.
- Berry V. & Gascuel O. (1996) On the interpretation of Bootstrap Trees: Appropriate Threshold of clade selection and induced gain. *Mol. Biol. Evol.* 13(7):999-1011.
- Burton A, Brown KM, & Lynch JP. (2013) Phenotypic diversity of root anatomical and architectural traits in *Zea* species. *Crop Science*. 53(3):1042–1055.
- Burton A, Johnson J, Foerster J, Hanlon MT, Kaepler SM, Lynch JP, & Brown KM. (2015) QTL mapping and phenotypic variation of root anatomical traits in maize (*Zea mays* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. Theoretische Und Angewandte Genetik. 128(1):93–106.
- Burton A, Johnson JM, Foerster JM, Hirsch CN, Buell CR, Hanlon MT, & Lynch JP. (2014) QTL mapping and phenotypic variation for root architectural traits in maize (*Zea mays* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 127(11):2293–2311.
- Burton A. (2010) Phenotypic evaluation and genetic basis of anatomical and architectural root traits in the genus *Zea*. A dissertation in Horticulture, Philosophy of Doctorate, Pennsylvania State University.
- Burton AL, Williams M, Lynch JP & Brown KM. (2012) RootScan: Software for high-throughput analysis of root anatomical traits. *Plant and Soil*. 357(1):189–203.
- Campbell C. (2016) Poaceae. Encyclopædia Britannica, inc. <https://www.britannica.com/plant/Poaceae/Economic-and-ecological-importance>
- Costich D & Willcox M. (2016) Maize: From Mexico to the world. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. CIMMYT. <https://www.cimmyt.org/blogs/maize-from-mexico-to-the-world/>
- Dávila P, Mejia-Saulés, MT, Soriano-Martínez AM & Herrera-Arrieta Y. (2018). Conocimiento taxonómico de la familia Poaceae en México. *Botanical Sciences*. 96(3):462–514.
- Davila P. & Sanchez-Ken L. (1993) Las gramíneas: características generales e importancia. Boletín, IBUG. 1(6):397-421.
- DeWet J. (1981) Grasses and the Culture History of Man. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 68(1):87-104
- Doebley J & Stec A. (1991) Genetic analysis of the morphological differences between maize and teosinte. *Genetics*. 129(1):285–295.

- Doebley J & Stec A. (1993) Inheritance of the morphological differences between maize and teosinte: Comparison of results for two F2 populations. *Genetics*. 134(2):559–570.
- Doebley J, Stec A & Gustus C. (1995) teosinte branched1 and the Origin of Maize: Evidence for Epistasis and the Evolution of Dominance. *Genetics*. 141:333-346.
- Doebley J. (2004). The Genetics of Maize Evolution. *Annual Review of Genetics*. 38(1):37–59.
- Dorweiler J, Stec A, Kermicle J & Doebley J. (2013) Teosinte glume architecture1: A Genetic Locus a Key Step in Maize Evolution Controlling, *Science*. 262(5131):233–235.
- Endicott S, Brueland B, Keith R, Schon R, Bremer C, Farmham D, DeBruin J, Clausen C, Stephen S & Carter P. (2015) Corn Growth and Development. Pioneer. EE. UU. https://www.maplehurstfarms.com/assets/1/17/ais2416_Corn_Growth_and_Development_Mobile-linked.pdf
- FAO (1992) Maize in human nutrition. FAO Food and Nutrition Series, No. 25. <http://www.fao.org/3/T0395E/T0395E01.htm>
- FAO. (2019) FAOSTAT, Production. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Fernandez AT, Wise TA & Garvery E. (2013) Achieving Mexico's Maize Potential. Food Sovereignty: A Critical Dialogue. *Global development and environment institute*. 1–25.
- Fitochapingo (2009) Inflorescencias en maíz. Fitochapingo Blog de temas agropecuarios, botánica, vida rural, plantas útiles, agronomía <https://fitochapingo.net/inflorescencias-en-maiz-zea-mays/>
- Fox J & Haight L. (2010) La política agrícola mexicana: metas múltiples e intereses en conflicto. Woodrow Wilson International Center for Scholars/CIDE/UCSC. 9–45.
- Gao Y & Lynch JP. (2016) Reduced crown root number improves water acquisition under water deficit stress in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Experimental Botany*. 67(15):4545–4557.
- Gaudin A, McClymont SA, Soliman S & Raizada MN. (2014) The effect of altered dosage of a mutant allele of Teosinte branched 1 (*tb1-ref*) on the root system of modern maize. *BMC Genetics*. 15(1):1–14.
- Gepts P, Famula T, Bettinger R, Brush S, Damania A, McGuire P & Qualset C. (2012) Biodiversity in Agriculture Domestication, Evolution, and Sustainability. Cambridge University Press. USA. 1pp.
- Gepts P. (2004) Crop Domestication as a Long-term Selection Experiment. *Plant Breeding*. 24(2):1–44.
- Golan G, Hendel E, Espitia G, Schwartz N & Peleg Z. (2018) Activation of seminal root primordia during wheat domestication reveals underlying mechanisms of plant resilience. *Plant, Cell & Environment*. 41(4):755-766.
- Grando S & Ceccarelli S. (1995) Seminal root morphology and coleoptile length in wild (*Hordeum vulgare* ssp. spontaneum) and cultivated (*Hordeum vulgare* ssp. vulgare) barley. *Euphytica*. 86(1):73–80.
- Hillis D, & Bull J. (1993) An Empirical Test of Bootstrapping as a Method for Assessing Confidence in Phylogenetic Analysis. *Systematic Biology*. 42(2):182–192.
- Ho MD, Rosas JC, Brown KM & Lynch JP. (2005) Root architectural tradeoffs for water and phosphorus acquisition. *Functional Plant Biology*. 32(8):737–748.
- Hochholdinger F. (2009) The Maize Root System: Morphology, Anatomy and Genetics. In: Bennetzen J.L., Hake S.C. (eds) Handbook of Maize: Its Biology. Springer, New York, NY
- Hufford MB, Xu X, Van-Heerwaarden J, Pyhäjärvi T, Chia JM, Cartwright RA & Ross-Ibarra J. (2012) Comparative population genomics of maize domestication and improvement. *Nature Genetics*. 44(7):808–811.
- Iltis H. (2000) Homeotic Sexual Translocations and the Origin of Maize. *Economic Botany*. 54(1):7–42.

- Kellogg EA. (1997) Plant evolution: The dominance of maize. *Current Biology*. 7(7):411–413.
- Kellogg EA. (2013) Grasses, Synteny, Evolution, and Molecular Systematics. *Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition*. 356–357.
- Khoury C, Carlos NR, Luigi G, Ximena FP, *et al.* (2016) Origins of food crops connect countries worldwide. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 283:20160792.
- Libby WF, Anderson EC & Arnold JR. (1949) Age Determination by Radiocarbon Content: World-Wide Assay of Natural Radiocarbon. *Science*. 109:227-228.
- Lopez A. (2003) Cuatro mitos mesoamericanos del maíz. En: Esteva G., & Marielle C. (eds) Sin Maíz no hay país. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes. México, DF. 31-32pp.
- MacNeish R. (1967) A summary of the subsistence. The Prehistory of the Tehuacan Valley. Volume 1: Environment and Subsistence, eds Byers D (Univ of Texas Press, Austin). 290–309pp.
- Mangelsdorf P. (1974) Corn Its Origin, Evolution and Improvement. University Library Nottingham. pp.
- Matsuoka Y, Vigouroux Y, Goodman MM, Sanchez GJ, Buckler E & Doebley J. (2002) A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 99(9):6080–6084.
- McClintock B, Kato A & Blumenschein A. (1981) Constitución cromosómica de las razas de maíz. Colegio de Posgraduados, Chapingo. Mexico. 58-60pp.
- Merril E. (1936) Plants and Civilizations. The scientific monthly. Harvard Tercentenary Conference of Arts and Sciences. 43(5):430-439.
- Neely J, Aiuvalasit M & Clause V. (2015) New light on the prehistoric Purrón Dam Complex: Small corporate group collaboration in the Tehuacán Valley, Puebla, México. *Journal of Field Archaeology*. 40(3):347-364
- Neely J. (2016) The beginnings of water management and agricultural intensification in Mesoamerica: the case of prehistoric San Marcos Well, the Purrón Dam and the ‘fossilized’ Canal Systems of the Tehuacán Valley, Puebla, Mexico. In: Sanz N (eds) The Origins of food production. UNESCO, Mexico city, Mexico. 146-159pp.
- Ortega R. (2003) La diversidad del maíz en México. En: Esteva G., & Marielle C. (eds) Sin Maíz no hay país. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes. México, DF.
- Postma JA & Lynch JP. (2011) Root Cortical Aerenchyma Enhances the Growth of Maize on Soils with Suboptimal Availability of Nitrogen, Phosphorus, and Potassium. *Plant Physiology*. 156(3):1190–1201.
- Postma JA, Kuppe C, Owen MR, Mellor N, Griffiths M, Bennett M, Lynch J & Watt M. (2017) OpenSimRoot: widening the scope and application of root architectural models. *New Phytologist*. 215(3):1274–1286.
- Rangarajan H, Postma JA, & Lynch JP. (2018) Co-optimization of axial root phenotypes for nitrogen and phosphorus acquisition in common bean. *Annals of Botany*. 1–15.
- Ransom J. (2013) Corn Growth and management. Quick Guide. North Dakota State University. Extension Service. www.ag.ndsu.edu
- Ray DK, Mueller ND, West PC & Foley JA. (2013) Yield Trends Are Insufficient to Double Global Crop Production by 2050. *Plos one*. 8(6):e66428
- Richards RA & Passioura JB. (1981) Seminal root morphology water-use of wheat II. Genetic variation. *Crop Science*. 21:253-255
- Rivera A. (2016) Proyecto arqueológico “Sierra Madre Oriental” Informe Técnico. INAH. Mexico.

- Saengwilai P, Nord EA, Chimungu JG, Brown KM, & Lynch JP. (2014b) Root Cortical Aerenchyma Enhances Nitrogen Acquisition from Low-Nitrogen Soils in Maize. *Plant Physiology*. 166(2):726–735.
- Saengwilai P, Tian X & Lynch JP. (2014a) Low crown root number enhances nitrogen acquisition from low nitrogen soils in maize (*Zea mays* L.). *Plant Physiology*. 166(2):581-9.
- Salvi S, Giuliani S, Ricciolini C, Carraro N, Maccaferri M, Presterl T, *et al.* (2016) Two major quantitative trait loci controlling the number of seminal roots in maize co-map with the root developmental genes *rctcs* and *Rum1*. *Journal of Experimental Botany*. 67(4):1149–1159.
- Smalley J & Blake M. (2003) Sweet Beginnings. *Current Anthropology*. 44(5):675–703.
- Stitzer MC & Ross-Ibarra J. (2018) Maize domestication and gene interaction. *New Phytologist*. 220(2):395–408.
- Sun B, Gao Y & Lynch J. (2018) Large crown root number improves topsoil foraging and phosphorus acquisition. *Plant Physiology*. 177:90-104.
- The National Library of Medicine Profiles in Science. (1966) <https://profiles.nlm.nih.gov/spotlight/ll/catalog.nlm.nlmuid-101584613X231-img>
- Tilman D, Balzer C, Hill J & Befort BL. (2011) Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 108(50):20260–20264.
- Vallebuena-Estrada M, Rodríguez-Arévalo I, Rougon-Cardoso A, Martínez-González J, García-Cook A, Montiel R & Vielle-Calzada JP. (2016) The earliest maize from San Marcos Tehuacán is a partial domesticate with genomic evidence of inbreeding. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 113(49):14151–14156.
- Vielle-Calzada JP & Padilla J. (2009a) The Mexican Landraces; Description, Classification and Diversity. In: Bennetzen J.L., Hake S.C. (eds) *Handbook of Maize: Its Biology*. Springer, New York, NY. 543-561pp.
- Vielle-Calzada JP, De La Vega OM, Hernández-Guzmán G, Ibarra-LacLette E, Alvarez-Mejía C, Vega-Arreguín JC, Jiménez-Moraila B, Fernández-Cortés A, Corona-Armenta G, Herrera-Estrella L. & Herrera-Estrella A. (2009b) The palomero genome suggests metal effects on domestication. *Science*, 326(5956):1078.
- Wet J, Harlan H, Stalker & Randrianasolo A. (1978) The origin of Tripsacoid maize (*Zea Mays* L.). *Evolution*. 32(2):233-244.
- Woll K, Borsuk LA, Stransky H, Nettleton D, Schnable PS & Hochholdinger F. (2005) Transcriptome Analyses of the Novel Maize Lateral and Seminal Root Initiation Mutant *Rum1*. *Plant Physiology*. 139(11):1255–1267.
- Yamasaki M, Tenaillon M, Bi I, Schroeder S, Sanchez-Villeda H, Doebley J, Gaut B & McMullen M. (2005) A Large-Scale Screen for Artificial Selection in Maize Identifies Candidate Agronomic Loci for Domestication and Crop Improvement. *The Plant Cell*. 17(11):2859–2872.
- York LM, Galindo-Castañeda T, Schussler JR & Lynch JP. (2015) Evolution of US maize (*Zea mays* L.) root architectural and anatomical phenes over the past 100 years corresponds to increased tolerance of nitrogen stress. *Journal of Experimental Botany*. 66(8):2347–2358.
- Zhu J, Mickelson SM, Kaeppler SM & Lynch JP. (2006) Detection of quantitative trait loci for seminal root traits in maize (*Zea mays* L.) seedlings grown under differential phosphorus levels. *Theoretical and Applied Genetics*. 113(1):1–10.

Apéndices.

Tabla S1: Resumen de los valores obtenidos para los rasgos de arquitectura radicular de las muestras antiguas A-N. Los promedios para los teocintles (*Zea spp.*) y las razas de maíz (*Zea mays subsp. mays*) fueron obtenidos de Burton (2013). *Zea spp.* incluye *Zea mays ssp. parviglumis*, *Zea mays ssp. mexicana*, *Zea mays ssp. huehuetenangensis*, *Zea perennis*, *Zea luxurians* y *Zea nicaraguensis*.

		<i>Teocintles</i> <i>n=61</i>	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	<i>Razas</i> <i>n=195</i>
	<u>Rasgos de</u> <u>Arquitectura</u>	<u>promedio</u> <u>± d.s.</u>															<u>promedio</u> <u>± d.s.</u>
Abreviación	Descripción																
<i>StemDia</i>	Diámetro del tallo, mm	17.10 ± 4.5	11	20.1	13	14.3	12.1	13.4	17.5	21.5	12.6	11.4	15.4	14	10.7	8.8	22.80 ± 4.5
<i>Sem#</i>	Número de raíces seminales	0.5 ± 0.5	ND	ND	ND	0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3.90 ± 1.3
<i>Nod#</i>	Número de raíces coronarias	24.00 ± 6.9	16	24	14	17	9	16	16	17	14	16	16	17	14	13	20.60 ± 4.2
<i>SysDia</i>	Diámetro del sistema radicular, mm	45.10 ± 13.9	23.5	35	22.6	32.3	22.6	42.8	30.8	35.1	29.6	37.1	30.9	38.7	39.7	35.8	60.90 ± 14.5
A	Ángulo		60.08	44.85	33.18	45.67	24.26	43.79	22.97	80.5	44.7	54.89	81.08	41.45	85.94	59.37	

ND. No determinado debido a degradación del espécimen.

A a N especímenes antiguos de la Figura 12

Tabla S2: Número de raíces seminales y número de raíces coronarias por nodo o verticilo.

<i>Espécimen</i>	<i>Sem.</i>	<i>W1</i>	<i>W2</i>	<i>W3</i>	<i>W4</i>	<i>W5</i>	<i>W6</i>	<i>W7</i>	<i>W8</i>	<i>W9</i>	<i>Nod. W4</i>	<i>Nod.</i>
<i>A</i>	ND	5	4	5	2	9					16	25
<i>B</i>	ND	6	7	5	6	6	8	9	11	14	24	72
<i>C</i>	ND	2	3	5	4	5	9				14	28
<i>D</i>	0	5	5	3	4	4	8				17	29
<i>E</i>	ND	2	3	2	2	3	2				9	14
<i>F</i>	ND	3	3	5	5	4	4				16	24
<i>G</i>	ND	3	4	5	4	8					16	24
<i>H</i>	ND	4	4	6	3	12					17	29
<i>I</i>	ND	3	3	4	4	10					14	24
<i>J</i>	ND	4	4	5	3	3					16	19
<i>K</i>	ND	4	4	4	4	6	5	9			16	36
<i>L</i>	ND	3	4	4	6	5	5				17	27
<i>M</i>	ND	5	3	3	3	3	4				14	21
<i>N</i>	ND	3	3	5	2	3	5				13	21

Sem.: Número de raíces seminales

W#: número de nodo o verticilo

Nod.W4: Número de raíces coronarias hasta el nodo cuatro.

Nod.: Número total de raíces coronarias

ND. No determinado

