

Jean-Philippe Vielle-Calzada,* Miguel Vallebuena,*,** Jaime Padilla-Calzada,*
César Álvarez-Mejía,* Javier Martínez,*** Angel García Cook,*** Rafael Montiel**

Paleogenómica en la cueva de San Marcos y su contribución al entendimiento del origen del maíz

Resumen: El conjunto actual de evidencias taxonómicas, arqueológicas y genéticas sugiere que el maíz (*Zea mays* ssp. *mays*) fue domesticado en el centro de México hace aproximadamente 9000 años, a partir del teocintle del Balsas (*Zea mays* ssp. *parviglumis*); sin embargo, múltiples preguntas relacionadas con los factores genéticos o ambientales que dieron lugar al arranque del proceso de domesticación prevalecen sin respuesta. Recientemente, iniciamos la secuenciación sistemática de ácido desoxirribonucleico (ADN) extraído a partir de muestras paleobotánicas intactas de maíz proveniente de la cueva de San Marcos Tehuacán, y fechadas en más de 5000 años antes del presente (AP). Nuestro objetivo es comparar la constitución genómica del maíz antiguo con el del teocintle y maíz actual, para reconstruir el paleogenoma del maíz ancestral, evidenciar posibles factores ambientales que pudieron influenciar el inicio del proceso de domesticación y estimar la variabilidad genética del maíz que se cultivaba en el Valle de Tehuacán hace más de 5000 años. Los resultados preliminares confirman la prevalencia del teocintle del Balsas como ancestro directo y abren la posibilidad de encontrar nuevos rasgos de domesticación asociados con la respuesta a factores abióticos impuestos por la actividad volcánica a inicios del Holoceno.
Palabras clave: maíz, teocintle, ADN antiguo, domesticación, Tehuacán.

Abstract: Overall botanical, archaeological and genetic evidence indicates that maize (*Zea mays* ssp. *mays*) was domesticated in Central Mexico approximately 9000 years ago, based on teosinte (*Zea mays* ssp. *parviglumis*) from the Balsas; however, a number of questions related to the nature of genetic or environmental domestication forces have yet to be addressed. Recently, we initiated a project to systematically sequence ancient DNA from paleobotanical intact maize samples found in the cave of San Marcos Tehuacán, and carbon dated to more than 5,000 years before present (BP). Our goal is to compare the genomic structure of ancient maize with the genome of teosinte and extant maize to reconstruct an ancestral maize paleogenome, determine possible environmental factors that could have influenced the start of the domestication process, and assess the genetic variability of maize that was cultivated in the Tehuacán Valley more than 5,000 years ago. Preliminary results confirm the prevalence of Balsas teosinte as a direct ancestor and open up the possibility of finding new domestication traits linked to the response to abiotic stress resulting from volcanic activity in the early Holocene.
Key words: maize, teosinte, ancient DNA, domestication, Tehuacán.

Inundando con su presencia una multitud de fiestas, ritos y tradiciones, el maíz (*Zea mays* ssp. *mays*) está siempre presente como un protagonista principal de la identidad mexicana. A partir de las crónicas populares, Guillermo Bonfil explicó

* Grupo de Desarrollo Reproductivo y Apomixis.

** Grupo de Paleogenómica e Interacción Núcleo-Mitocondrial, Unidad de Genómica Avanzada del Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad, CINVESTAV Irapuato.

*** Dirección de Estudios Arqueológicos, INAH.

su condición emblemática al designarlo como la eterna fuente de creatividad cultural del México profundo (Bonfil Batalla, 1982). Su establecimiento como alimento predilecto no fue sencillo: requirió el diseño y la implementación de sofisticados procedimientos indispensables para su cultivo y consumo, incluyendo la organización del tiempo y del espacio en función del ritmo fisiológico de un vegetal, y su asociación con otras plantas como componentes indispensables de la milpa. Su permanente presencia ha dado lugar a la emergencia de una inmensa diversidad de prácticas religiosas, ha permitido el desarrollo de una gastronomía inusualmente diversa, y lo ha convertido en una referencia esencial para entender la organización social mexicana. Su nombre significa “el que ofrece la vida”, y proviene de la manera en que lo llamaban los taínos-araucanos de la isla Hispaniola (ahora República Dominicana y Haití) antes de la primera travesía de Colón (Las Casas, 2004). Fuera del continente americano, el maíz permaneció desconocido hasta después de 1492, cuando ya se cultivaba desde los confines del territorio de Yukón hasta la Tierra de Fuego, ocupando tanto planicies a más de 3 000 m en los Andes como las selvas húmedas y bajas del Amazonas.

Debido a su adaptabilidad, en el siglo XVI el cultivo del maíz se dispersó rápidamente a todas las regiones del planeta, convirtiéndose en una de las herencias más importantes de la cultura mesoamericana. Al representar más de 20% de la producción total de granos, es el tercer cultivo más cosechado del mundo, después del trigo y del arroz. Con un valor de producción anual evaluado en cerca de 50 000 millones de dólares, el maíz se cultiva en más países que cualquier otra planta. Su importancia actual se extiende más allá de los usos alimenticios y lo convierte en materia prima de múltiples actividades agro-industriales. El almidón de maíz se utiliza para reforzar fibras de algodón o de papel, así como para la fabricación de polímeros plásticos biodegradables. La fermentación del grano es esencial para la producción de etanol, el jarabe de maíz es utilizado en la fabricación de refrescos, y el sorbitol como saborizante en la fabricación de pasta de dientes. Derivados de maíz se utilizan también en la fabricación de pegamentos, pintura, fuegos artificiales, lociones,

crayolas, tinta, baterías eléctricas, mostaza, helados de sabores, y múltiples productos cosméticos.

El maíz es un miembro de la familia de las poáceas, como lo son también el arroz, el trigo, la cebada y el sorgo. Pero a diferencia de la mayoría de cereales en que las semillas maduras se desprenden espontáneamente de la planta para caer al suelo y germinar, sus granos permanecen firmemente adheridos a la mazorca gracias al olote, y sólo se desprenden si se interviene para desgranarlos. Al no poder arrojar semillas libremente, la especie depende completamente de la actividad humana para perpetuar su existencia a partir de la siembra. Esta singular característica dejó perplejos a los naturalistas europeos que lo observaron por primera vez a finales del siglo XV. Además de la inmensa diversidad de formas y colores de granos que llegaban de América, les sorprendió también la separación de sus flores unisexuales (masculinas o femeninas) como parte de un mismo individuo pero en ubicaciones anatómicas opuestas, el porte antropomórfico del tallo único con hojas que como brazos se alinean sobre un solo plano, y el volumen masivo del olote materno que sostiene a las semillas. Estas características eran muy distintas a las de cualquier otro pasto conocido en Europa. Rápidamente las preguntas más obvias comenzaron a surgir: ¿cómo podía esta planta reproducirse de manera silvestre con tan pobre capacidad natural de dispersión de semillas? ¿De qué forma los nativos la consumían y en que regiones del nuevo continente se cultivaba? ¿Por qué era tan diferente a los demás cereales comestibles? El misterio del origen del maíz ha mantenido intrigados a los naturalistas, a los biólogos, a los antropólogos y a los historiadores por más de cuatro siglos. Las primeras respuestas a algunas de estas preguntas llegaron a mediados del siglo XX, cuando una conjunción de evidencias arqueológicas y genéticas transformó la percepción del origen de esta singular planta.

Arqueobotánica en el Valle de Tehuacán

En 1958, Richard Scott MacNeish (entonces investigador del Museo Nacional de Canadá) comenzó

una larga expedición por América Central en busca de vestigios que pudiesen explicar el origen de la agricultura en el continente. MacNeish conocía los trabajos de Nikolai Ivanovich Vavilov, el genetista ruso que en 1931 había sugerido que el centro de origen de numerosos cultivos vegetales se encontraba en México. Asumiendo que Vavilov tenía razón y que las especies de las cuales proviene la calabaza, el tomate, el chile, el aguacate, el frijol o el maíz, fueran originarias de Mesoamérica, MacNeish postulaba que las comunidades nómadas debieron aprovechar la protección de cuevas para asentarse, dejando deshechos orgánicos que permitieran revelar la naturaleza y la antigüedad de sus alimentos. Con condiciones ambientales suficientemente secas, existía la posibilidad de emprender excavaciones para descubrir restos orgánicos que al ser fechados pudiesen contribuir a determinar la antigüedad de la agricultura en Mesoamérica.

Fue en Tehuacán, a finales de 1960, cuando MacNeish encontró por primera vez resquicios rocosos con características ideales para la preservación de restos orgánicos (Mangelsdorf *et al.*, 1964; MacNeish, 1967a y 1967b; MacNeish *et al.*, 1972). El Valle de Tehuacán-Cuicatlán (ahora parte de la reserva de la biósfera del mismo nombre) se extiende actualmente en territorio perteneciente a los estados de Puebla y Oaxaca. Su relieve accidentado forma un conjunto de serranías que no rebasan 3 000 m y rodean los extensos valles de Tehuacán y Zapotitlán, así como la cañada de Cuicatlán. Se le considera parte de la cuenca alta del río Papaloapan que recibe aguas de las montañas de la Sierra de Tehuacán y la Sierra Mixteca a partir del río Tehuacán, del Calapa y del Zapotitlán. El valle es semi-árido, cálido y seco, con escasas lluvias en el verano. El agua que se pierde por evapo-transpiración vegetal excede dramáticamente la precipitación pluvial, por lo que las especies xerófitas dominan la cobertura vegetal en la mayoría de la región. La Reserva de la Biosfera de Tehuacán-Cuicatlán alberga también regiones importantes de selva caducifolia, algunas áreas de bosque templado, y una de las pocas zonas de bosque mesófilo de montaña que se pueden todavía encontrar en México.

Aunque MacNeish visitó no menos de 15 cuevas en el Valle de Tehuacán, fueron cinco las que decidió explorar exhaustivamente: Coxcatlán, Purrón, El Riego, San Marcos y Tecorral (MacNeish *et al.*, 1972). Durante los cuatro años que duró la primera fase de excavaciones, contó con la participación multidisciplinaria de un equipo de arqueólogos y botánicos que fueron instrumentales para la correcta interpretación de sus descubrimientos (Flannery y Marcus, 2001). Entre ellos estaba Frederick Peterson, quien dejó sus trabajos en Chiapas para convertirse en el coordinador de campo de las exploraciones en Coxcatlán. También participaron Ángel García Cook y Antoinette Nelken, estudiantes destacados de José Luis Lorenzo Bautista en la Escuela Nacional de Antropología e Historia (ENAH). Adicionalmente, MacNeish recibió apoyo de equipo que incluía a Paul Mangelsdorf y Walton Galinat (ambos de la Universidad de Harvard), C. Earle Smith (Universidad de Alabama), Lawrence Kaplan (Universidad de Massachusetts), Hugh Cutler (Jardín Botánico de Missouri) y Thomas Whitaker (Universidad de California), quienes se encargaron de analizar con detalle los restos vegetales que iban siendo desenterrados en cada una de las excavaciones. En total, el equipo de MacNeish encontró más de 24 100 muestras paleobotánicas de maíz repartidas en cinco cuevas exploradas, de las que 12 860 representaban olotes completos y en excelente estado de preservación. Adicionalmente, se encontraron algunos restos de raíz, numerosos pedazos de tallo y de hoja —muchos con evidencia de haber sido mordidos o masticados—, fragmentos de panoja y más de 700 semillas. Estos descubrimientos demostraron por primera vez que la domesticación del maíz había ocurrido en el centro de México hace al menos 6 000 años. Los olotes de maíz no fueron los restos vegetales más antiguos. También se descubrieron semillas de calabaza (*Cucurbita mixta*) en algunos de los estratos más profundos de Coxcatlán. Si bien la exactitud en la estimación de la edad de los restos de maíz del Valle de Tehuacán-Cuicatlán sería posteriormente corregida por resultados obtenidos a partir de tecnologías modernas, los descubrimientos de Coxcatlán y San Marcos demostraron que el origen del maíz remontaba al inicio del Holoceno.

Para MacNeish, las cuevas de San Marcos y Tecorral se encontraban en la vecindad de una región privilegiada para el establecimiento de las primeras prácticas agrícolas en Mesoamérica. Ambas miran hacia el norte, al borde de un suave declive que pudo permitir el establecimiento de terrazas de cultivo parcialmente inundadas durante la temporada de lluvias. Al fondo de la cuenca se extienden las planicies aluviales, donde los habitantes de la comunidad de San Marcos Necoxtla todavía cultivan maíz. Mientras en Tecorral sólo se encontraron tres estratos sedimentarios, San Marcos contenía abundantes restos de olotes secos distribuidos en cinco estratos, de los cuales el más antiguo data de aproximadamente 5400 años AP (MacNeish, 1967a y 1967b; Long *et al.*, 1989).

Evidencias paleobotánicas indican que el maíz fue domesticado en el centro de México

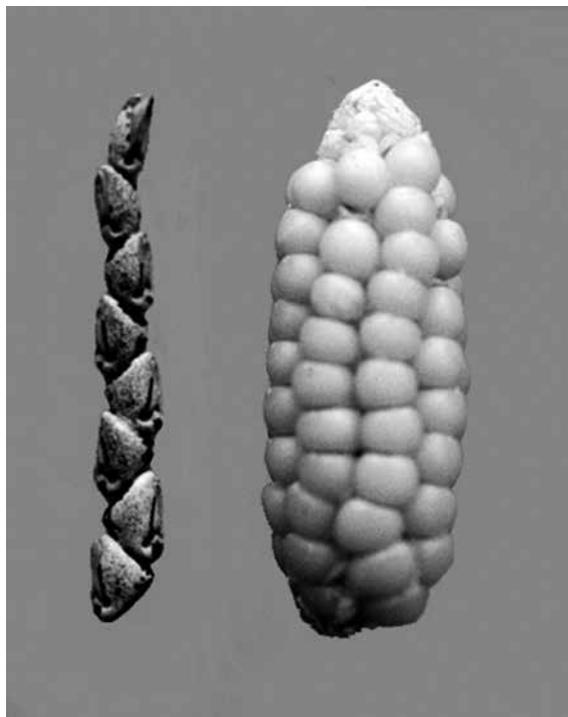
La utilización de tecnologías que permiten estimar la antigüedad de muestras orgánicas con mayor precisión, combinadas con los resultados de exploraciones arqueobotánicas más recientes, han permitido complementar los trabajos del equipo de MacNeish y precisar la temporalidad de la aparición del maíz en Mesoamérica. La datación por medio de un acelerador de espectrometría de masas (AMS, siglas en inglés de *Accelerator Mass Spectrometry*) permite medir de manera precisa concentraciones mucho más pequeñas de radiocarbono, reduciendo el tamaño de la muestra analizada. Esta tecnología, inexistente en 1960, permitió estimar nuevamente la edad de las muestras encontradas en Coxcatlán, determinando que los restos de maíz más antiguos eran más jóvenes de lo previsto, con una edad aproximada de 4609 años AP (Smith, 2005). En 1966 un grupo de arqueólogos encabezado por Kent Flannery (Universidad de Michigan) profundizó el estudio de una cueva oaxaqueña que no había sido explorada por MacNeish. La cueva Guila Naquitz se encuentra a 5 km de Mitla, en la región montañosa y semiárida en el extremo oriental de los valles de Oaxaca, a 1926 msnm. Si bien esta cueva presen-

tó menos vestigios orgánicos y una secuencia de ocupación menos completa que Coxcatlán, fechaciones recientes por AMS permitieron estimar que la edad de los pocos olotes descubiertos en Guila Naquitz era aproximadamente de 6229 años AP (Piperno y Flannery, 2001).

En años recientes, un nuevo tipo de evidencia ha venido a enriquecer el muestrario de restos de maíz antiguo. Como se percatara el propio MacNeish al inicio de sus exploraciones, en las regiones tropicales húmedas la materia vegetal se degrada rápido, por lo que resulta imposible encontrar restos vegetales milenarios. Los fitolitos son micropartículas cristalinas de silicio, de aproximadamente 20 micras de diámetro, que se acumulan en algunas células vegetales. Al permanecer intactos por largos periodos de tiempo después de la muerte de la planta, pueden ser utilizados para identificar restos vegetales a partir de muestras de sedimento analizadas bajo un microscopio. Los fitolitos tienen características de forma y tamaño distintivos para cada familia de plantas, lo cual permite que sean utilizados para documentar la presencia de restos vegetales en numerosas regiones tropicales del planeta. Los fitolitos y el polen han sido utilizados para reconstruir la historia ecológica y agrícola de algunas regiones húmedas de México. En San Andrés Tabasco, trabajos pioneros mostraron evidencias de ocupación humana desde hace 4000 años AP, con posibles restos de cultivo de maíz (Rust y Sharer, 1988). Estudios más recientes demostraron que polen del género está presente en sedimentos que datan de 7100 años AP, lo cual sugiere que el maíz se cultivaba en la región costera de Tabasco en tiempos anteriores a la de los olotes de Guila Naquitz (Pohl *et al.*, 2007). En 2009, estudios realizados en un resquicio localizado bajo un monolito rocoso de la barranca de Xihuatotla, cerca del pueblo de Tlaxmalac en el Valle de Iguala (Guerrero), mostraron que instrumentos primitivos de molienda tenían incrustados fitolitos de maíz de 8700 años AP, lo cual abrió nuevas preguntas referentes a la ubicación de la zona en que se domesticó el maíz, y confirmó la posibilidad de que su origen remonte a cerca de 9000 años (Piperno *et al.*, 2009).

Evidencias genéticas indican que el ancestro del maíz es el teocintle del Balsas

Se denomina teocintle al conjunto de especies del género *Zea* que no incluye al maíz. Existen teocintles anuales o perennes, todos morfológicamente similares en su crecimiento vegetativo al maíz. Crecen y se distribuyen de manera silvestre desde el norte de México hasta el suroeste de Nicaragua (Weatherwax, 1935; Sánchez *et al.*, 1998). En particular, *Zea mays* ssp. *parviglumis* crece en los valles del suroeste de México como pasto silvestre, pero a menudo termina mezclado con el maíz en las parcelas de cultivo y sin que los campesinos puedan distinguirlo de manera inmediata. Al distribuirse ampliamente en la región de la cuenca del Balsas, se le conoce también como teocintle del Balsas. La simple comparación visual del maíz con el teocintle del Balsas genera una paradoja fascinante. Antes de la floración, es de hecho imposible distinguirlo del maíz. Pero después de esa fase las plantas muestran diferencias tan extremas que por décadas los taxónomos consideraron que el teocintle era más cercano genéticamente al arroz que al maíz (fig. 1). Si bien su porte general es muy similar al del maíz, las flores y semillas son dramáticamente distintas. El teocintle del Balsas genera ramas secundarias que terminan en flores masculinas, algo que ningún maíz primitivo o moderno es capaz de formar. Además, la flor femenina —después de ser polinizada— forma un máximo de 20 semillas, todas envueltas o “encapsuladas” de manera individual en la gluma, una cubierta dura y hermética que impide su fácil germinación. Finalmente, como en el caso para la mayoría de los cereales, la flor polinizada del teocintle es frágil y, al madurar, sus semillas desarticuladas se desprenden de la planta madre para caer al suelo en forma espontánea, lo cual favorece su diseminación y capacidad germinativa. En contraste, la mazorca masiva del maíz puede portar cientos de semillas naturalmente adheridas al olote, lo cual evita que se desgranen de manera autónoma e impide su dispersión sin la intervención humana. Mientras la mayoría de las plantas de cultivo difiere de su ancestro silvestre en aspectos sencillos y obvios



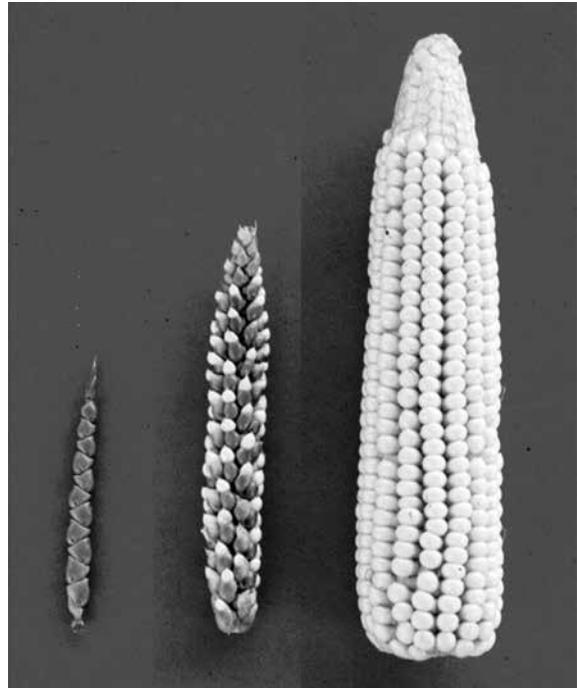
● Fig. 1 Comparación de inflorescencias con semillas en el teocintle y el maíz. Mientras el teocintle produce un raquis flexible con un puñado de semillas desarticuladas (izquierda), el maíz produce un olote masivo con cientos de semillas que requieren ser desgranadas para caer al suelo (derecha); foto cortesía de John Doebley.

(por ejemplo: las papas ancestrales silvestres parecen versiones pequeñas de la papa domesticada; lo mismo es cierto para el tomate y la calabaza), para el maíz no existe una planta silvestre que al formar pequeñas mazorcas pueda reconocerse como su ancestro directo. Las diferencias visibles entre las semillas del teocintle y las del maíz son tan obvias que deberían ser suficientes para excluir toda posibilidad de que estuvieran estrechamente relacionadas; sin embargo, múltiples estudios de comparación morfológica, citogenética y genética han demostrado que el teocintle del Balsas es el ancestro directo del maíz, por ello se le ha clasificado como una subespecie del género *Zea* (McClintock, 1929; Beadle, 1939; Doebley *et al.*, 1997).

Algunas de las limitaciones que presenta la exploración arqueológica han sido progresivamen-

te complementadas por estudios genéticos que han aportado elementos esenciales para responder a las preguntas que plantea la domesticación de plantas en Mesoamérica. El inicio de estos estudios se remonta a mediados del siglo xx, cuando Georges W. Beadle, después de pasar 30 años estudiando el desarrollo de las moscas y de los hongos filamentosos —con descubrimientos fundamentales que le valieron el Premio Nobel en 1958— decidió regresar a sus raíces para emprender al estudio genético del origen del maíz. En 1939, al inicio de su estancia con Rollins Emerson en la Universidad de Cornell (Horowitz *et al.*, 2004), y en gran parte gracias a los trabajos pioneros de Barbara McClintock (1929), Beadle adquirió destrezas experimentales en genética clásica que le permitieron sincronizar el crecimiento de plantas de maíz con el de pastos como el teocintle, para intentar su cruce y obtener semilla híbrida, así como realizar estudios citogenéticos que le permitieran distinguir la constitución de los diferentes cromosomas homólogos durante su apareamiento meiótico.

Beadle demostró que era posible obtener semillas viables cuando se realizaba una cruce entre el teocintle *ssp. mexicana* y el maíz (fig. 2). Bajo el microscopio pudo comprobar no solamente que los cromosomas del teocintle eran casi idénticos a los del maíz, sino que en las semillas resultantes de la cruce entre ambos —durante la formación de las células reproductivas— estos mismos cromosomas podían intercambiar material genético durante su apareamiento como si fueran cromosomas homólogos de la misma especie. Beadle constató que dicho apareamiento cromosómico no ocurre cuando se intenta cruzar el maíz con otros pastos como *Tripsacum dactyloides*, también nativo de Centroamérica. En su conjunto, estos resultados indican que los cromosomas del teocintle y del maíz son estructuralmente similares. En 1969, exasperado por la falta de congruencia que los biólogos del maíz mostraban al tratar de explicar su origen, Beadle retomó los resultados de estos experimentos como punto de partida para realizar cruces entre el teocintle y maíz, con la esperanza de obtener plantas cuyas mazorcas fueran similares a las que había encontrado la expedición de MacNeish en Tehuacán.



● Fig. 2 Inflorescencia de teocintle *ssp mexicana* (izquierda), de maíz (derecha), y de un híbrido de primera generación entre ambos (centro); foto cortesía de John Doebley.

Para ello fue necesario determinar la frecuencia en la que aparecen plantas de tipo parental en las crías de las semillas híbridas, por lo que decidió trasladarse a México para cultivar una población de 50 000 individuos generados a partir de la auto-polinización de plantas obtenidas al cruzar el maíz de la variedad Chapalote con el teocintle. Con la ayuda de un equipo de amigos y colegas se clasificó cada individuo de la población de plantas y se asignó a una de tres categorías posibles: aquellos que en rasgos relacionados con la inflorescencia femenina eran idénticos al maíz Chapalote, los que eran idénticos al teocintle, y los que tenían características que representaban una mezcla de ambas plantas parentales. De manera consistente, una de cada 500 plantas fue idéntica ya sea al teocintle o al Chapalote, lo cual sugiere que no más de cinco rasgos genéticos mayores son suficientes para diferenciar la morfología de la inflorescencia femenina del teocintle a la del maíz, demostrando que las diferencias entre ambas son lo suficientemente sencillas como para

haber surgido por la influencia de la selección humana durante un proceso de domesticación relativamente reciente, es decir hace miles y no millones de años (Beadle, 1972 y 1978). Con este experimento, Beadle daba a conocer la primera argumentación experimental en favor del teocintle como único ancestro directo del maíz, ofreciendo una primera solución categórica al problema de su origen.

Identificación de genes afectados por la domesticación

De manera especial, los trabajos recientes del grupo de John Doebley (Universidad de Wisconsin), a partir de métodos moleculares aplicados a la biología del desarrollo vegetal, han permitido confirmar los hallazgos de Beadle a partir de la identificación de algunos genes que dieron lugar a la emergencia de una planta cultivable sustancialmente distinta al teocintle. En 2005, un estudio exhaustivo de variabilidad genética por medio de marcadores moleculares mostró que las poblaciones de *Zea mays* ssp *parviglumis* provenientes de las cuencas del río Balsas son las más parecidas filogenéticamente a todo el maíz que existe actualmente en el continente americano, y que la divergencia genética entre el maíz y el teocintle data de casi 9 000 años (Matsuoka *et al.*, 2002). Estos mismos estudios confirmaron que la domesticación de la planta ocurrió una sola vez a partir de una población de teocintle no mayor a 5 000 individuos, descartando de manera categórica la posibilidad de que el maíz pueda ser el resultado de la llamada teoría tripartita o un posible origen multicéntrico, como se ha postulado recientemente (Kato, 2009). Los resultados de Matsuoka *et al.* implican también que el descubrimiento de la posible localización exacta de la zona geográfica donde ocurrió el evento de domesticación se complica por la reducida superficie que debió tener la parcela original.

Para estudiar algunas de las principales diferencias que distinguen al maíz del teocintle del Balsas, Doebley comenzó por determinar la ubicación cromosómica de los posibles cinco rasgos genéticos mayores postulados por Beadle, para

posteriormente identificarlos y conocer su naturaleza molecular. Para ello hubo necesidad de utilizar el mapa genético de maíz, una elaborada cartografía de unidades matemáticas inicialmente abstractas —cuya elaboración representa un esfuerzo de más de 60 años a cargo de la comunidad de genetistas de maíz en su conjunto— que permiten organizar los rasgos y los genes que los controlan de manera lineal, calcular la distancia que los separa, y predecir su ubicación en el seno de cada cromosoma. El primer gen que el grupo de trabajo de Doebley encontró asociado con las diferencias entre el teocintle y el maíz fue *teosinte branched-1* (*tb1*) (Doebley *et al.*, 1997; Clark *et al.*, 2004). Cuando se interrumpe la actividad de *tb1* en el maíz, la planta adquiere ramas secundarias largas y órganos reproductivos masculinos al final de cada rama, al igual que el teocintle del Balsas. En términos moleculares se dice que *tb1* es un gen “represor”, pues su actividad en el maíz es esencial para inactivar la función de los genes que controlan la formación de ramas laterales. En cambio, en el teocintle del Balsas el gen *tb1* permanece significativamente inactivo de manera natural; al no poder actuar, se forman espontáneamente ramas laterales y dan lugar a una planta cuyo porte es muy diferente al del maíz. Por tanto, la aparición del maíz necesitó que el gen *tb1* se activara, dando lugar por lo general a una planta de tallo único que presenta una sola flor masculina. Las razones que dieron lugar a la activación de *tb1* en el maíz y no en el teocintle permanecen desconocidas. El segundo gen identificado que contribuye a explicar las diferencias entre ambas plantas es *teosinte glume architecture-1* (*tgal*) (Doebley, 2004; Wang *et al.*, 2005). El teocintle tiene las semillas herméticamente encapsuladas en la gluma, una cubierta rígida que impide su consumo como alimento. La gluma también existe en el maíz; sin embargo, en las etapas jóvenes de la formación de semillas, de manera natural los tejidos que dan lugar a su formación no crecen y, por tanto, dejan desnuda a cada una de las semillas. El principal gen que controla el crecimiento de la gluma es *tgal*. Cuando por cruza se logra transferir la copia de *tgal* del maíz al teocintle, la gluma reduce su crecimiento y las semillas quedan parcialmente desnudas.

Por tanto, la copia natural de *tgal* que tiene el maíz es necesaria para reprimir el crecimiento de la gluma, lo cual también fue un cambio determinante en la transformación del teocintle a maíz para fines de consumo humano.

Con el descubrimiento de estos dos genes el origen y la evolución del maíz comenzó a ser explicado a partir de la estructura molecular de algunos factores que dieron lugar a su aparición y diversificación. Sin embargo, es evidente que la domesticación representó un proceso evolutivo mucho más complejo que la simple selección empírica de cinco rasgos genéticos mayores controlados por genes individuales. Por ejemplo, el tamaño y la cantidad de semillas, su composición proteica, su capacidad germinativa, el tamaño de las hojas o el volumen del tallo son algunas características del maíz que no han sido explicadas en términos genéticos y evolutivos. Se desconoce también por qué, si las dos especies se distinguen por tan pocas diferencias genéticas, el maíz sólo fue domesticado una sola vez en una región específica de México. Con el avance de tecnologías que permiten agilizar el conocimiento genético a partir del desciframiento completo de un genoma, es probable que los próximos años multipliquen el descubrimiento de las interacciones genéticas fundamentales para la domesticación del maíz.

Importancia del genoma para el estudio de la domesticación

El conjunto actual de evidencias botánicas, arqueológicas y genéticas indica que el inicio de la transformación de teocintle del Balsas en maíz ocurrió una sola vez, hace alrededor de 9 000 años, en el centro de México; probablemente en el territorio donde convergen los estados de México, Michoacán y Guerrero, y que ocupan actualmente las cuencas de algunos de los afluentes del Balsas (en particular el río Temascaltepec). Sin embargo, se desconoce al día de hoy la ubicación exacta del evento de domesticación, y múltiples preguntas fundamentales permanecen sin respuesta. Se desconoce cómo surgieron los cambios iniciales que transformaron el teocintle en maíz. En particular, se desconoce la naturaleza genética y morfológica

de dichos cambios iniciales: ¿acaso las poblaciones nómadas del centro de México empezaron por cultivar el teocintle ancestral para de manera lenta y sutil seleccionar rasgos que fueran deseables? ¿Acaso cambios morfológicos ocurridos de manera natural constituyeron la base de la selección subsecuente y progresiva dirigida por el intelecto humano?

Para contribuir a elucidar algunas de estas preguntas, en 2009 iniciamos una serie de estudios moleculares que permitieron analizar la variabilidad genómica de las variedades mexicanas en el contexto de estudios de origen. Se denomina genoma al conjunto completo de información genética que, codificada en forma de ADN, define e identifica a cualquier organismo vivo. Además de la totalidad de los genes, el genoma incluye el conjunto de elementos estructurales, funcionales y evolutivos que permiten controlar las características de desarrollo, crecimiento y adaptabilidad de cualquier ser vivo, y sobre los cuales la evolución ejerce procesos de selección natural u artificial, incluida la domesticación a partir de procesos dirigidos por el ser humano. Nuestros estudios preliminares demostraron que el tamaño del genoma de las diferentes variedades de maíz es significativamente variable para las 59 reconocidas en México. A diferencia de maíces mejorados provenientes de regiones templadas en Estados Unidos, algunas variedades mexicanas contienen en promedio hasta 27% menos ADN que los maíces de referencia internacional como el B73 (Schnable *et al.*, 2009). Entre ellas, la variedad *Palomero toluqueño* — considerada una de las más antiguas — presentó un genoma estimado en 2 900 millones de nucleótidos (2.9 Gb), el más pequeño reportado a la fecha (Vielle-Calzada *et al.*, 2009). Una combinación de estrategias de secuenciación masiva que favorece el desciframiento de la secuencia de regiones codificantes para proteínas (genes) sobre las regiones altamente repetidas que presenta el genoma de maíz, permitió identificar más de 44 000 genes del *Palomero toluqueño*, mismos que al ser del dominio público ofrecen la posibilidad de realizar estudios comparativos para determinar el grado de variabilidad que presenta el genoma. Actualmente es posible analizar los patrones de variabilidad en casi todos los genes

del maíz y correlacionarlos con lo que en teoría se espera de un proceso de domesticación, a diferencia de estudios previos en los que se contaba con información de algunos genes y no del conjunto completo de información genética.

Impacto ambiental durante el proceso de domesticación

Para identificar genes involucrados en rasgos que distinguen al maíz del teocintle que pudiesen haber sido seleccionados durante el proceso de domesticación nos dimos a la tarea de comparar el genoma del *Palomero toluqueño* con el de la variedad mejorada B73, con el propósito de identificar regiones cuya secuencia fuese idéntica en ambos genomas. Se sabe que la transformación de teocintle del Balsas en maíz estuvo acompañada de una pérdida significativa de variabilidad genética (en forma de variabilidad nucleotídica) en genes que fueron importantes para seleccionar en favor de rasgos deseables para los humanos. Esta misma carencia de variabilidad se refleja actualmente entre variedades modernas (generadas en el transcurso del siglo xx), por lo que constituye una excelente herramienta para la identificación de genes implicados en el proceso de domesticación. La comparación permitió identificar más de 650 regiones de al menos 500 pares de bases (0.5 Kb) de longitud cuya secuencia era idéntica en ambos genomas (de las cuales 117 tienen más de 1Kb de longitud). Estas regiones son candidatas a haber sido afectadas en su variabilidad nucleotídica por el proceso de domesticación; sin embargo, dicha pérdida de variabilidad puede también explicarse porque la función de algunos genes presentes en dichas regiones son indispensables para la sobrevivencia de la planta, por lo cual no existe variabilidad funcional en los mismos, o también porque eventuales cuellos demográficos —causados quizá por procesos de selección natural— hayan en algún momento reducido el tamaño de las poblaciones de maíz nativo, favoreciendo variantes genéticas específicas sobre otras menos adaptadas a la presión ejercida por cambios ambientales, por ejemplo. Para distinguir entre estas opciones fue necesario realizar un análisis comparativo de las

secuencias seleccionadas en al menos 20 tipos distintos de maíz mexicano y 16 muestras de poblaciones naturales de teocintle del Balsas localizadas en el centro de México (Vielle-Calzada *et al.*, 2009). De manera interesante, entre las regiones que presentaron baja variabilidad nucleotídica se encuentra representado un conjunto importante de al menos 30 genes cuya función está implicada en la respuesta de la raíz a retos abióticos, entre ellos cambios bruscos de temperatura, o altas concentraciones de sales o de metales pesados en el suelo (Williams y Mills, 2005). A partir de un análisis estadístico que incluyó estimaciones del índice de variabilidad nucleotídica, pruebas de simulación por coalescencia y modelos de Hudson-Krietman-Aguadé (HKA) (Hudson *et al.*, 1987), pudimos demostrar que al menos tres genes que codifican para proteínas de respuesta a altas concentraciones de metales pesados en el suelo —y que permiten detoxificar las células de la raíz a partir del transporte transmembranal de cationes de arsénico, plomo o cobre, por ejemplo— presentan diferencias de variabilidad nucleotídica que sólo pueden explicarse a partir de eventos de selección artificial dirigida por seres humanos, posiblemente a partir de presiones de selección natural ejercidas sobre la cubierta vegetal. Estos tres genes se encuentran ubicados en una región del cromosoma cinco del maíz, ya postulada por Doebley y sus colaboradores como importante para el proceso de domesticación (Doebley, 2004). En resumen, nuestros resultados demuestran que el impacto ambiental a través de modificaciones de la constitución química del suelo jugó un papel importante en el proceso de domesticación.

Pero ¿cómo pudo ser que, sin conocimiento humano de los procesos que la raíz utiliza para resistir concentraciones tóxicas de metales pesados, dichos efectos hayan sido incorporados al proceso de domesticación? Una hipótesis razonable está asociada con la historia de la actividad eruptiva de los volcanes de la Faja Volcánica Transmexicana (FVTM) a inicios del Holoceno. En particular, la historia del Xinantécatl o Nevado de Toluca registra erupciones importantes entre 12000 y 8500 AP; la denominada *pómez Toluca superior* ocurrió hace cerca de 10500 años y fue una erupción compleja, pues las tres últimas de

sus cuatro columnas plinianas fueron interrumpidas por explosiones hidro-magmáticas que cubrieron un área mínima de 2 000 km² (Macías, 2005). Esta etapa coincide con la época para la cual se postula el inicio del proceso de domesticación del maíz. La distancia que separa el cráter de las cuencas del río Balsas es de entre 60 y 80 km. Por ello cabe la posibilidad de que cambios edafológicos causados por erupciones volcánicas en la zona del centro de México, ocurridos al inicio del Holoceno, hayan ejercido una presión de selección sobre las especies de la cubierta vegetal, y en particular sobre las poblaciones de teocintle, o de maíz primitivo, que existían hace 9 000 años. Esta presión pudo haber sido de carácter transmutacional, como han sugerido algunos autores (Benz e Iltis, 1992; Inbar *et al.*, 1995, Víctor Rodríguez Alcocer 2000, com. personal), o quizá de carácter más sutil al proporcionar condiciones de fertilidad de suelo progresivamente aprovechadas por poblaciones humanas a lo largo del proceso de domesticación.

El genoma del maíz antiguo: análisis preliminar de muestras de San Marcos

Para determinar la constitución genómica y el grado de variabilidad genética que presentan muestras de maíz ancestral, así como para contrastar las hipótesis relacionadas con el impacto que cambios edafológicos pudieron tener durante la domesticación, iniciamos un nuevo periodo de exploración en las cuevas de San Marcos y Coxcatlán 50 años después de los trabajos encabezados por Richard MacNeish en esas mismas cuevas, en los que participara Ángel García Cook (figs. 3, 4 y 5). En ambas cuevas los planos conservados permitieron identificar cuadrantes que habían permanecido poco explorados por la expedición original (Fowler y MacNeish, 1972; MacNeish y García Cook, 1972). Si bien los restos de material orgánico fueron escasos en San Marcos, se pudieron encontrar nueve macro-muestras de maíz en excelente estado de preservación, incluyendo varios olotes enteros y fragmentos de tejido vegetativo (García Cook y Vielle-Calzada,



Fig. 3 La cueva San Marcos en febrero de 2012.



Fig. 4 La cueva Coxcatlán en febrero de 2012.

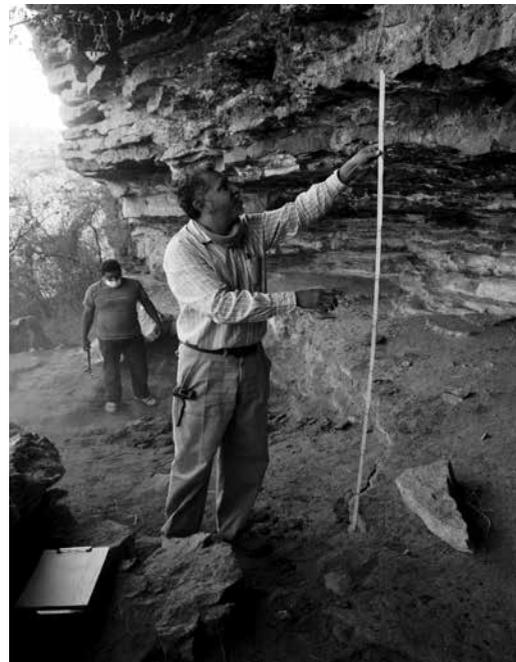
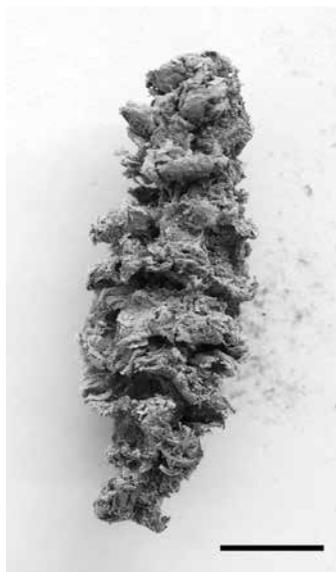


Fig. 5 Javier Martínez antes de iniciar la limpieza del área a excavar hacia el oriente. Cueva San Marcos, febrero de 2012.

2011). Como se indica en el informe entregado al Consejo de Arqueología del INAH, quien autorizó las nuevas excavaciones, esas muestras fueron colectadas siguiendo los protocolos internacionales para garantizar la preservación intacta de la muestra (fig. 6), libre de posible contaminación proveniente de materiales actuales. Los olotes y restos vegetativos obtenidos fueron morfológicamente similares a los del estrato D de las excavaciones de MacNeish (1968) (fig. 7). La fechación directa de cada una de las nueve muestras,



● Fig. 6 Javier Martínez y Miguel Vallebuena buscando muestras paleobotánicas para extracción de ADN en cueva San Marcos, febrero de 2012.



● Fig. 7 Olote intacto recuperado en la cueva San Marcos, febrero de 2012; escala, 1 cm.

obtenida por AMS, permitió determinar que cuatro de las diez muestras tienen de 5 000 a 5 300 años de antigüedad, tres fecharon entre 4 000 y 4 200 años AP, y las últimas dos fueron de aproximadamente 1 400 años AP. Aunque en Coxcatlán se encontraron 27 olotes adicionales, el más antiguo data de 1 500 años AP, por lo que inicialmente nos hemos enfocado a analizar el ADN de las muestras de más de 5 000 años provenientes de la cueva de San Marcos.

Siguiendo los protocolos establecidos en el Laboratorio de ADN Antigo de Langebio Cinvestav Irapuato, tres olotes paleobotánicos (SM9, SM10 y SM5) fueron completamente procesados para extraer ADN, después de eliminar las capas superficiales, y tomando aproximadamente 1cm^3 de la parte central. Para una cuarta muestra de más de 5 000 años, que incluye restos de raíz (SM3), se eligió la punta de una de las raíces secundarias. La extracción se realizó haciendo modificaciones a un protocolo establecido para semillas antiguas (Rafael Montiel y Miguel Vallebuena, resultados sin publicar) para posteriormente amplificar de manera exitosa —por reacción de la polimerasa en cadena (PCR)— un fragmento de 140 bp correspondiente a la unidad grande de la enzima Rubisco (Rbcl) (Poinar *et al.*, 1998), lo cual comprueba que la extracción resultó en el aislamiento de ADN de maíz. Las concentraciones de ADN recuperadas oscilan entre 20 y 30 picogramos por microlitro, lo que fue ampliamente suficiente para generar bibliotecas genómicas de alta calidad que luego fueron secuenciadas por tecnología SOLiD 5 500, modificando los protocolos del fabricante. Si bien sólo se recuperó alrededor de 5% de ADN de maíz, la comparación de métodos de mapeo permite estimar que la cobertura del genoma para una de las tres muestras (SM10) oscila entre 4 y 27%, siendo este último un sobre-estimador con base a parámetros de mapeo flexible. De la misma manera, el ADN recuperado permitió obtener el genoma completo del cloroplasto en las tres muestras a una redundancia mínima de 6X, lo que permitirá realizar comparaciones profundas de la componente materna no solamente entre muestras antiguas, sino también a través del tiempo a partir de comparaciones con el genoma del cloroplasto de maíces del presente.

El análisis parcial del genoma de las tres muestras de San Marcos arriba descritas, empieza a ofrecer datos que permiten establecer la naturaleza de la constitución genética del maíz de hace 5 000 años, la variabilidad natural que existía entre plantas de poblaciones contemporáneas, así como la posible distinción que pudo haber existido entre poblaciones originarias de dos regiones distintas del Valle de Tehuacán (la región Norte donde se encuentra San Marcos, y la Sureste donde se encuentra Coxcatlán). Un análisis preliminar con base en polimorfismos presentes en genomas actuales del género *Zea* sugiere que la constitución genómica del maíz de San Marcos de hace cerca de 5000 años era mucho más parecida al teocintle del Balsas que a cualquier raza de maíz actual. Sugiere también que existen múltiples variantes nucleotídicas que han desaparecido de los maíces actuales durante el proceso de selección posterior. Adicionalmente, estos genomas antiguos están siendo analizados para identificar regiones de cobertura correspondiente a *loci* genéticos que han sido previamente descritos como afectados por la domesticación. Por ejemplo, hemos identificado una cobertura de 300 nucleótidos correspondiente al *loci* SMS1, el cual contiene un gen que codifica para una proteína P-ATPasa de respuesta a metales pesados, lo que permitirá determinar si dicho fragmento de ADN ya presentaba rasgos de domesticación hace más de 5000 años. Durante los próximos meses, el análisis exhaustivo de estos datos ofrecerá sin duda una visión más amplia, más acertiva y más profunda del proceso por el cual el teocintle fue progresivamente domesticado para dar lugar al maíz tal y como lo conocemos en la actualidad.

Bibliografía

- Beadle, G.W.
1939. "Teosinte and the Origin of Maize", *Journal of Heredity*, núm. 30, pp. 245-247.
- 1972. "The Mystery of Maize", *Chicago Field Museum of Natural History Bulletin*, vol. 43, núm. 10, pp. 2-11.
- 1978. "Teosinte and the Origin of Maize", en D.W. Walden (ed.), *Maize Breeding and Genetics*, Nueva York, Wiley, pp. 113-128.
- Benz, B. e Iltis H.
1992. "Evolution of Female Sexuality in the Maize Era", *Economic Botany*, vol. 46, núm. 2, pp. 212-222.
- Bonfil Batalla, G.
1982. *El maíz: fundamento de la cultura popular mexicana*, México, Conaculta.
- Clark, R.M., E. Linton, J. Messing y J.F. Doebley
2004. "Pattern of Diversity in the Genomic Region near the Maize Domestication Gene *tb1*", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 101, núm. 3, pp. 700-707.
- Doebley J.
2004. "The Genetics of Maize Evolution", *Annual Review of Genetics*, núm. 38, pp. 37-59.
- Doebley J., A. Stec y L. Hubbard
1997. "The Evolution of Apical Dominance in Maize", *Nature*, vol. 386, núm. 6624, pp. 485-488.
- Flannery K. y J. Marcus
2001. *Richard Stockton MacNeish, 1918-2001: A Biographic Memoir*, Washington, D.C., The National Academies Press (Biographical Memoirs, 80).
- Fowler, M. y Richard S. MacNeish
1972. "Excavations in the Coxcatlán Locality in the Alluvial Slopes", en Richard S. MacNeish (ed.), *The Prehistory of the Tehuacán Valley. Volume Five. Excavations and Reconnaissance*, Austin, Robert S. Peabody Foundation/University of Texas Press, pp. 219-340.
- García Cook, Ángel y J-Ph. Vielle-Calzada
2011. "Proyecto de Rescate Arqueológico-Botánico Tehuacán y el estudio genómico del origen y domesticación del maíz", México, Archivo Técnico de la Coordinación Nacional de Arqueología, INAH.
- Horowitz, N.H., P. Berg, M. Singer, J. Lederberg, M. Susman, J. Doebley y J.F. Crow
2004. "A Centennial: George W. Beadle, 1903-1989", *Genetics*, vol. 166, núm. 1, pp. 1-10.

- Hudson, R.R., M. Kreitman y M. Aguadé
1987. "A Test of Neutral Molecular Evolution Based on Nucleotide Data", *Genetics*, vol. 166, núm. 1, pp. 153-159.
- Inbar, M., H.A. Osters, C.A. Parica, M.B. Remesal y F.M. Salani
1995. "Environmental Assessment of 1991 Hudson Volcano Eruption Ashfall Effects on Southern Patagonia Region, Argentina", *Environmental Geology*, vol. 25, pp. 119-125.
- Kato Yamamake, A.
2009. "Teorías sobre el origen del maíz", en T. Kato, C. Mapes, L.M. Cabrera, J.A. Serratos y R.A. Bye (eds.), *Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica*, México, UNAM/Conabio, pp. 34-71.
- Las Casas, B. de
2004. *Historia de las Indias* (Selección), Madrid, Linkgua/Red.
- Long, A., B.F. Benz, D.J. Donahue, A.J.T. Jull y L.J. Toolin
1989, "First Direct AMS Dates on Early Maize from Tehuacan, Mexico", *Radiocarbon*, vol. 31, pp. 1035-1040.
- Macías, J.L.
2005. "Geología e historia eruptiva de algunos de los grandes volcanes activos de México", *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana, Volumen Conmemorativo del Centenario: Temas Selectos de la Geología Mexicana*, t. LVII, núm. 3, pp. 379-424.
- MacNeish, Richard S.
1967a. "An Interdisciplinary Approach to an Archaeological Problem", en D.S. Byers (edit.) *The Prehistory of the Tehuacan Valley. Vol. 1. Environment and Subsistence*, Austin, Robert S. Peabody Foundation/University of Texas Press, pp. 14-24.
- MacNeish, Richard S.
1967b. "A Summary of the Subsistence", en D.S. Byers (edit.), *The Prehistory of the Tehuacan Valley. Vol. 1. Environment and Subsistence*, Austin, Robert S. Peabody Foundation/University of Texas Press, pp. 290-309.
- MacNeish, Richard S., M.L. Fowler, A. García Cook, F.A. Peterson, A. Nelken-Terner y J.A. Neely
1972. *The Prehistory of the Tehuacan Valley. Volume Five. Excavations and Reconnaissance*, Austin, Robert S. Peabody Foundation/University of Texas Press.
- MacNeish, Richard S. y Ángel García Cook
1972. "Excavations in the San Marcos in the Travertine Slopes", en *The Prehistory of the Tehuacan Valley. Volume Five. Excavations and Reconnaissance*, Austin, Robert Peabody Foundation, University of Texas Press, pp. 137-160.
- Mangelsdorf, P.C., R.S. Macneish y W.C. Galinat
1964. "Domestication of Corn", *Science*, vol. 143, núm. 3606, pp. 538-545.
- Matsuoka Y., Y. Vigouroux, M.M. Goodman, J. Sánchez, E.S. Buckler y J.F. Doebley
2002. "A Single Domestication for Maize Shown by Multilocus Microsatellite Genotyping", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 99, pp. 6080-6084.
- McClintock, B.
1929. "Chromosome Morphology in *Zea Mays*", *Science*, vol. 69, núm. 1798, p. 629.
- Piperno, D.R. y K.V. Flannery
2001. "The Earliest Archaeological Maize (*Zea Mays* L.) from Highland Mexico: New Accelerator Mass Spectrometry Dates and their Implications", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 98, pp. 2101-2103.
- Piperno, D.R., A.J. Ranere, I. Holst, J. Iriarte y R. Dickau
2009. "Starch Grain and Phytolith Evidence for Early Ninth Millennium B.P. Maize from the Central Balsas River Valley, Mexico", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 106, pp. 5019-5024.
- Pohl, M.E., D.R. Piperno, K.O. Pope y J.G. Jones
2007. "Microfossil Evidence for pre-Columbian Maize Dispersals in the Neotropics from San Andres, Tabasco, Mexico", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 104, núm. 16, pp. 6870-6875.

- Poinar, H.N., M. Hofreiter, W.G. Spaulding, P.S. Martin, B.A. Stankiewicz, H. Bland, R.P. Evershed, G. Possnert y S. Pääbo
1998. "Molecular Coproscopy: Dung and Diet of the Extinct Ground Sloth *Nothrotheriops Shastensis*", *Science*, vol. 281, núm. 5375, pp. 402-406.
- Rust, W.F. y R.J. Sharer
1988. "Olmec Settlement Data from La Venta, Tabasco, Mexico", *Science*, vol. 242, núm. 4875, pp. 102-104.
- J. Sánchez, T.A. Kato, R.M. Aguila, J.M. Hernandez, A. Lopez, J.A. Ruiz
1998. *Distribución y caracterización del teocintle*, Guadalajara, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
- Schnable, P.S. *et al.*
2009. "The B73 Maize Genome: Complexity, Diversity, and Dynamics", *Science*, vol. 326, núm. 5956, pp. 1112-1115.
- Smith, B.D.
2005. "Reassessing Coxcatlan Cave and the Early History of Domesticated Plants in Mesoamerica", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 102, núm. 27, pp. 9438-9445.
- Vielle-Calzada, J.P., O. Martínez de la Vega, G. Hernández-Guzmán, E. Ibarra-Laclette, C. Álvarez-Mejía, J.C. Vega-Arreguín, B. Jiménez-Moraila, A. Fernández-Cortés, G. Corona-Armenta, L. Herrera-Estrella y A. Herrera-Estrella
2009. "The Palomero Genome Suggests Metal Effects on Domestication", *Science*, vol. 326, núm. 5956, pp. 1078-1079.
- Wang H., B.T. Nussbaum-Wagler, B. Li, Q. Zhao, Y. Vigouroux, M. Faller, K. Bomblies, L. Lukens y J.F. Doebley
2005. "The Origin of the Naked Grains of Maize", *Nature*, vol. 436, núm. 7051, pp. 714-719.
- Weatherwax, P.
1935. "The Phylogeny of *Zea Mays*.", *The American Midlands Naturalist*, vol. 16, pp. 1-71.
- Williams, L.E. y R.F. Mills
2005. "P (1B)-ATPases: An Ancient Family of Transition Metal Pumps with Diverse Functions in Plants", *Trends in Plant Science*, vol. 10, núm. 10, pp. 491-502.

