

Incompatibilidad gametofítica en las razas mexicanas de maíz*

Gametophytic incompatibility in Mexican maize breeds

José Miguel Padilla García^{1§}, José de Jesús Sánchez González¹, Lino de la Cruz Larios¹, José Ariel Ruiz Corral², José Ron Parra¹ y Moisés Martín Morales Rivera¹

¹Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA). Universidad de Guadalajara. Carretera Guadalajara-Nogales, km. 15.5. A. P. 129. C. P. 45110. Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jalisco, México. Tel. y Fax.: (33)3682 - 0743. ²Campo Experimental Centro Altos de Jalisco. Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro. Carretera Tepatitlán-Lagos de Moreno, km 8. INIFAP. A. P. Núm. 56. Tepatitlán de Morelos 47600, Jalisco. Tel. 33-36413575 Ext. 114. [§]Autor para correspondencia: (jmpadillagarcia@hotmail.com).

Resumen

La incompatibilidad esporofítica y gametofítica evitan la autofecundación o la fecundación cruzada, y es una forma de aislamiento reproductivo. Los genes de incompatibilidad-cruzada en maíz de los loci *gal* y *tcb1*, son causantes del reconocimiento o rechazo entre el estigma y el polen, y de ellos depende la presencia o ausencia de grano en la mazorca del maíz. El presente estudio tuvo como objetivo detectar alelos de incompatibilidad-cruzada de *gal* y *tcb1* en colecciones representativas de grupos raciales de maíz de México. El trabajo se realizó en el Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara, ubicado en Zapopan, Jalisco, México durante los ciclos agrícolas de primavera-verano 2007 a 2009. Se evaluaron, en condiciones de temporal, 184 accesiones de razas mexicanas de maíz con base en porcentaje de llenado de grano de mazorca en sus cruizas con probadores macho recesivos (sin factores de incompatibilidad) y probadores hembra dominantes (con factores de incompatibilidad). En el análisis de varianza hubo diferencias altamente significativas tanto entre razas como entre accesiones dentro de razas para el locus *gal*. Con relación al locus *tcb1* sólo se encontraron diferencias altamente significativas entre razas. El alelo *Gal-S*, responsable de la incompatibilidad no-recíproca, se detectó 53.8% de las accesiones, mientras que el alelo

Abstract

Sporophytic and gametophytic incompatibility avoids self-fecundation or cross-fertilization, and it is a form of reproductive isolation. The cross-incompatibility genes in maize from loci *gal* and *tcb1*, cause recognition or reject between stigma and pollen, and from them depends presence or absence of grain in maize ear. The aim of this study was to detect alleles of cross-incompatibility of *gal* and *tcb1* in collections representing maize breeds groups from Mexico. The work was made at Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias from Universidad de Guadalajara, located in Zapopan, Jalisco, Mexico during agricultural spring-summer 2007 to 2009 cycles. Under rainfall conditions 184 accessions of Mexican maize breeds were assessed based in percentage of grain filling in ear in their crosses with recessive male testers (without incompatibility factors) and dominant female testers (with incompatibility factors). The analysis of variance suggested highly significant differences as well between breeds as between accessions within breeds for locus *gal*. With regards locus *tcb1* there were found only highly significant differences between breeds. Allele *Gal-S*, responsible of non-reciprocal incompatibility, was detected in 53.8% of accessions, while neutral allele *Gal-m* and recessive allele *gal* was identified in 55.43 and 15.76%,

* Recibido: septiembre de 2011
Aceptado: enero de 2012

neutro *Gal-m* y el alelo recesivo *gal* se identificaron 55.43 y 15.76%, respectivamente. El alelo *Tcb1-S* fue detectado en muy bajas proporciones, concentrado principalmente en las razas de Elotes-Occidentales y Maíz-Dulce.

Palabras clave: *Zea mays* L., factores gametofíticos, flujo genético, incompatibilidad-cruzada.

Introducción

En especies alógamas una característica esencial de la autoincompatibilidad es evitar la autofecundación, como un medio para reducir los efectos deletéreos de la endogamia (Castric y Vekemans, 2004; Pickup y Young, 2008). Asimismo, la incompatibilidad-cruzada causa restricción del flujo de genes, aislamiento reproductivo y la prevención de híbridos inadaptados (Matsubara *et al.*, 2003; Kermicle *et al.*, 2006). Se conocen dos tipos de incompatibilidad, el tipo heteromórfico, que se caracteriza por las diferencias morfológicas entre genotipos. Por ejemplo las diferencias en la longitud o la forma de los estilos, y el tipo homomórfico, en donde los genotipos incompatibles no se distinguen morfológicamente; éste último también se clasifica en gametofítico y esporofítico. En el sistema gametofítico, el fenotipo del polen es codificado por su propio genoma haploide, mientras que en el sistema esporofítico, el fenotipo del polen está determinado por el esporofito (de los padres diploides del polen) y puede involucrar interacciones de dominancia entre los alelos (Glémin *et al.*, 2005). En la mayoría de los sistemas de incompatibilidad están presentes factores adicionales, referidos como modificadores, porque influyen en la respuesta de dichos sistemas; la especificidad de la incompatibilidad sólo puede determinarse bioquímicamente (Cruz-García *et al.*, 2003).

Los factores de incompatibilidad-cruzada en el género *Zea* causantes del reconocimiento o rechazo entre el estigma y el polen son heredados de manera mendeliana simple. Nelson (1996) identificó diez regiones cromosómicas influidas por estos factores. El locus *gal* ha sido muy estudiado, pues el alelo *Gal-S* causa esterilidad no-recíproca; una planta *Gal-S/Gal-S* no es receptiva al polen *gal*; sin embargo, el polen *Gal-S* induce un llenado de grano completo en la mazorca de plantas homocigotas *gal/gal*. Un tercer alelo, *Gal-m*, desde el punto de vista de la compatibilidad, se ha definido como alelo de acción neutral dado que fertiliza todos los genotipos incluyendo a *Gal-S/Gal-S* y las plantas

respectively. Allele *Tcb1-S* was detected at very low rates, mainly found in breeds Elotes-Occidentales and Maíz-Dulce.

Key words: *Zea mays* L., gametophytic factors, genetic flow, cross-incompatibility.

Introduction

In allogamic species an essential characteristic is self-incompatibility to avoid self-fecundation, as mean to reduce detrimental effects of endogamy (Castric and Vekemans, 2004; Pickup and Young, 2008). Also, the cross-incompatibility causes restriction of genes flow, reproductive isolation and prevents unadapted hybrids (Matsubara *et al.*, 2003; Kermicle *et al.*, 2006). There are two types of incompatibility, heteromorphic type, which is characterized by morphological differences between genotypes. For instance, differences in length and shape of carpels, and the homomorphic type, where incompatible genotypes can not morphologically differentiate; this last is also classified like gametophytic and sporophytic. In gametophytic system, pollen phenotype is coded by its own haploid genome, while in sporophytic system, pollen phenotype is defined by sporophyte (from pollen's diploid parents) and can involve interactions of dominance between alleles (Glémin *et al.*, 2005). In most of incompatibility systems exist additional factors, referred like modifiers, because affect response of such systems; the specificity of incompatibility can only be biochemically determined (Cruz-García *et al.*, 2003).

Factors of cross-incompatibility in genera *Zea* that cause recognition or reject between stigma and pollen are inherited in a simple Mendelian way. Nelson (1996) identified then chromosomal regions influenced by these factors. Locus *gal* has been widely studied, since allele *Gal-S* causes non-reciprocal sterility; a plant *Gal-S/Gal-S* it is not receptive to pollen *gal*; however, pollen *Gal-S* induces complete grain filling in ears of homozygous plants *gal/gal*. A third allele, *Gal-m*, from the compatibility point of view, has been defined like neutral action allele since it fertilizes all genotypes including to *Gal-S/Gal-S* and the homozygous plants for this allele are receptive to pollen with any of the three alleles from locus *gal* (Kermicle and Allen 1990). Kermicle and Allen (1990) found a genetic factor that limits crossing of maize with teosinte (*Zea* spp.) and they called it Teosinte Incompatibility Complex (TIC); then, Evans and Kermicle

homocigotas para este alelo son receptoras al polen con cualquiera de los tres alelos del locus *gal* (Kermicle y Allen 1990). Kermicle y Allen (1990) encontraron un factor genético que limita el cruzamiento del maíz con el teocintle (*Zea* spp.) y lo denominaron Complejo de Incompatibilidad del Teocintle (TIC); posteriormente, Evans y Kermicle (2001) y Kermicle y Evans (2005) lo denominaron como el locus *teosinte crossing barrier-1 (tcb1)*. Los mismos autores en 2010 identificaron el alelo de incompatibilidad *Ga2-S* encontrado predominantemente en poblaciones de teocintle. La acción génica del alelo *Gal-S* es parcialmente dominante sobre el alelo *gal*, mientras que el alelo *Tcb1-S* es completamente dominante sobre *tcb1* (Kermicle y Allen, 1990; De la Cruz *et al.*, 2008b).

El maíz tiene su centro de origen y diversidad genética en México (Wellhausen *et al.*, 1952; Sánchez *et al.*, 2000), y ha sido ampliamente estudiado en aspectos evolutivos, de diversidad y flujo genético. Los estudios incluyen caracteres morfológicos, fisiológicos (Sánchez *et al.*, 1993), citológicos, bioquímicos, análisis de isoenzimas (Sánchez *et al.*, 2000), moleculares (Matsuoka *et al.*, 2002; Rice *et al.*, 2006), adaptación climática y descriptores ecológicos (Ruíz *et al.*, 2008). Sin embargo, en México, el estudio de los sistemas de incompatibilidad-cruzada en el género *Zea* es escaso sobresaliendo el estudio de Cíntora (1963) realizado en algunas razas Mexicanas de maíz, y los trabajos de De la Cruz (2007) y De la Cruz *et al.* (2007 y 2008a) en razas de maíz, teocintle y en híbridos comerciales de maíz.

Se considera que el uso de sistemas de incompatibilidad entre especies o variedades es uno de los mecanismos más efectivos que podrían utilizar los agricultores que producen maíces para usos especiales como: maíz dulce, palomero, de alta lisina, y maíz orgánico libre de organismos genéticamente modificados (OGM); ya que previenen la hibridación indiscriminada del maíz comercial de siembras adyacentes y de plantas voluntarias (Palau-del-màs *et al.*, 2009) y evita el flujo genético no deseado. Asimismo, en regiones de México en donde todavía se encuentran variedades nativas de maíz y poblaciones de teocintle se requiere obtener información de su constitución genética, respecto a la incompatibilidad, con el propósito de tener una buena planeación en los programas de monitoreo y de conservación *in situ*. El objeto de la presente investigación fue detectar la presencia y distribución geográfica de alelos de incompatibilidad-cruzada gametofítica de los loci *gal* y *tcb1* en colecciones representativas de las razas de maíz de México.

(2001) and Kermicle and Evans (2005) called it like locus *teosinte crossing barrier-1 (tcb1)*. Same authors in 2010 identified the incompatibility allele *Ga2-S* predominantly found in populations of teosinte (Kermicle and Evans, 2010). Gene action of allele *Gal-S* is partially dominant over allele *gal*, while allele *Tcb1-S* is completely dominant over *tcb1* (Kermicle and Allen, 1990; De la Cruz *et al.*, 2008b).

Maize has its origin and genetic diversity in Mexico (Wellhausen *et al.*, 1952; Sánchez *et al.*, 2000), and has been widely studied in evolution, diversity and genetic flow matters. Studies included morphological and physiological characters (Sánchez *et al.*, 1993), cytological, biochemical, isoenzymes analysis (Sánchez *et al.*, 2000), molecular (Matsuoka *et al.*, 2002; Rice *et al.*, 2006), climatic adaptation and ecological descriptors (Ruíz *et al.*, 2008). However, in Mexico the study of cross-incompatibility system in genera *Zea* is scarce, outstanding study made by Cíntora (1963) in some of Mexican maize breeds, and works from De la Cruz (2007) and De la Cruz *et al.* (2007 y 2008a) in maize, teosinte breeds and in commercial maize hybrids.

It is considered that use of incompatibility systems between species or cultivars is one of the most effective mechanisms that could use maize producer farmers for special uses like: sweet corn, pop corn, with high lysin and organic maize free of genetically modified organisms (GMO); since they come from irrational hybridation of commercial maize of adjacent crops and voluntary plants (Palau-del-màs *et al.*, 2009) and avoids the unwanted genetic flow. Also, in regions from Mexico where still exist native maize cultivars and teosinte populations is required to obtain information about its genetic constitution, regarding incompatibility with the purpose to have good planning for supervision and conservation *in situ* programs. The aim of this research was to detect presence and geographic distribution of gametophytic cross-incompatibility alleles of loci *gal* and *tcb1* in collections representative in maize breeds from Mexico.

Materials and methods

Site of study and materials handling

The study was performed during agricultural spring-summer 2007 to 2009 cycles, in the experimental field from Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias

Materiales y métodos

Sitio de estudio y manejo de los materiales

El estudio se efectuó en los ciclos agrícolas de primavera-verano 2007 a 2009 en condiciones de temporal, en el campo experimental del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) de la Universidad de Guadalajara, ubicado en Nextipac, Zapopan, Jalisco, México, a 20° 44' 42.5" latitud norte y 103° 30' 52.5" longitud oeste, con una altitud de 1 650 m, temperatura media de 23.6 °C en los meses de junio-octubre y precipitación media anual de 816 mm.

Material genético

Para el estudio del locus *gal* se sembraron 184 accesiones y para el locus *tcb1* 122, todas representativas de 54 razas mexicanas de maíz (Cuadro 1). Nótese en el Cuadro 1, que para ciertas razas el número de accesiones fue mayor que en otras debido a que en las razas donde se habían detectado los genes de incompatibilidad (Cíntora, 1963; De La Cruz, 2007) se amplió el muestreo dentro de ellas. Adicionalmente, se usaron los probadores hembra NC-348xW22-P4830 y NC-348xW22-P5270, para evaluar el locus *gal*, ambos son homocigotes dominantes (*Gal-S/Gal-S*), y fueron identificados por De la Cruz *et al.* (2008b). En el caso del locus *tcb1* se usó la cruce simple LUG03xW22-TIC-1.1 en estado heterocigote (*Tcb1-S/-*). Además se utilizaron los probadores macho G-8327A y P-32R21 sin factores de incompatibilidad (*gal/gal*, *tcb1/tcb1*), seleccionados a partir del estudio realizado por De la Cruz *et al.* (2008a).

(CUCBA) of Universidad de Guadalajara, located in Nextipac, Zapopan, Jalisco, México, at 20° 44' 42.5" north latitude and 103° 30' 52.5" west longitude, at a height of 1 650 m, average temperature of 23.6 °C in months from June-October and yearly average precipitation of 816 mm.

Genetic material

For study of locus *gal* 184 accessions were planted and for locus *tcb1* 122, all representing 54 Mexican maize breeds (Table 1). In Table 1 can be seen that for certain breeds the number of accessions was higher than in others because in breeds where incompatibility genes were detected (Cíntora, 1963; De La Cruz, 2007) sampling was widened within them. Also, female testers NC-348xW22-P4830 and NC-348xW22-P5270 were used, to assess locus *gal*, both with dominant homozygotes (*Gal-S/Gal-S*), and were identified by De la Cruz *et al.* (2008b). In case of locus *tcb1* LUG03xW22-TIC-1.1 simple cross in heterozygous state (*Tcb1-S/-*) was used. Also male testers G-8327A and P-32R21 without incompatibility factors (*gal/gal*, *tcb1/tcb1*) were used, selected from study made by De la Cruz *et al.* (2008a).

Study variables

Studied variable was grain filling in ear, which was quantified with presence or absence of grain from crossings of maize breeds with each type of tester, and in individual plants from each breed grain filling percentage was calculated, obtained with three testers applying methodology proposed by Kermicle and Allen (1990). The

Cuadro 1. Razas y número de accesiones estudiadas por raza.

Table 1. Breeds and number of accessions studied per breed.

Raza	Acc.	Raza	Acc.	Raza	Acc.
Ancho	1	Dulcillo del Noroeste	10	Olotón	1
Apachito	1	Dzit Bacal	1	Onaveño	1
Arrocillo Amarillo	1	Elotero de Sinaloa	3	Palomero de Chihuahua	5
Azul	1	Elotes Cónicos	2	Palomero Toluqueño	2
Bofo (Coreño)	2	Elotes Occidentales	40	Pepitilla	1
Bofo	11	Gordo	1	Ratón	1
Bolita	6	Harinoso de Ocho	1	Reventador	14
Cacahuacintle	1	Jala	2	Tablilla de Ocho	1
Celaya	2	Maíz Blando de Sonora	1	Tabloncillo	2
Chalqueño	2	Maíz Dulce	28	Tabloncillo Perla	1
Chapalote	9	Motozinteco	1	Tehua	1
Comiteco	1	Mountain Yellow	1	Tepecintle	1

Cuadro 1. Razas y número de accesiones estudiadas por raza (Continuación).
Cuadro 1. Razas y número de accesiones estudiadas por raza (Continuation).

Raza	Acc.	Raza	Acc.	Raza	Acc.
Complejo Serrano de Jalisco	1	Mushito	1	Tuxpeño	3
Conejo	1	Nal Tel	1	Tuxpeño Norteño	1
Coscomatepec	1	Nal Tel de Altura	1	Vandeño	1
Cristalino de Chihuahua	1	Negríto	2	Zamorano Amarillo	1
Cónico	3	Negro Chimaltenango	1	Zapalote Chico	2
Cónico Norteño	1	Olotillo	1	Zapalote Grande	1

Variables de estudio

La variable estudiada fue el llenado de grano de la mazorca, que se cuantificó con la presencia o ausencia de grano de los cruzamientos de las razas de maíz con cada tipo de probador, y en las plantas individuales de cada cruce se estimó el porcentaje del llenado de grano, obtenido con tres probadores aplicando la metodología propuesta por Kermicle y Allen (1990). La estimación del llenado de grano se hizo visualmente redondeando con aproximación a 10%. Esto es, llenado abajo 5% se designó 0%, de 5 a 15% el valor fue 10% y así sucesivamente hasta alcanzar 95% al cual se asignó 100%.

Diseño y manejo de experimentos

Las accesiones se sembraron en el campo con base en su clasificación racial en dos surcos de 5 m de longitud y 0.77 de ancho con 17 plantas por surco. El manejo agronómico fue el recomendado por el INIFAP para esta zona. Se llevó a cabo un análisis de varianza en donde se consideraron como fuentes de variación a las razas y a las accesiones dentro de razas. En los casos en que se detectaron diferencias significativas, se utilizó la prueba de medias de Dunnett al 0.05 de probabilidad. En ambos análisis se utilizó el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS versión 8.2 (SAS Institute, 1992). Los testigos de comparación para la prueba de Dunnett fueron tomados de los mismos materiales incluidos en el estudio. El procedimiento GLM calculó para cada comparación el valor de Dunnett debido a que hubo diferencias entre razas para el número de accesiones. Para el caso del probador macho recesivo sin factores de incompatibilidad, se eligió un material con valores de 100% de llenado de grano en mazorca, mientras para el caso de probadores hembra dominantes con factores de incompatibilidad se usaron materiales con valores de 0% de llenado de grano.

calculation of grain filling was made visually with approximation at 10%. This is, filling below 5% was designed 0%, from 5 to 15% value was 10%, and so on up to 95% which was assigned 100%.

Experimental design and handling

Accessions were sown based in their breed classification in two 5m length furrows and 0.77 m wide with 17 plants per furrow. INIFAP's agronomical handling recommended for this region was used. Where variation sources were considered breeds and accession within breeds, analysis of variance was performed. In cases in which significant differences were detected, Dunnett means test at 0.05 of probability was used. In both analyses GLM procedure from statistical software SAS version 8.2 (SAS Institute, 1992) was used. Comparison controls for Dunnett test were taken from same materials included in study. GLM procedure calculated for each comparison Dunnett value due there were differences between breeds for number of accessions. For the case of recessive male tester without incompatibility factors, while in case of female dominant testers with incompatibility factors materials with 0% of grain filling values were used.

Dominant female testers from locus *gal* (*Gal-S/Gal-S*) and from locus *tcb1* (*Tcb1-S/tcb1*), received pollen from each studied accession and each accession received pollen from recessive male tester (*gal/gal, tcb1/tcb1*). Plants from female tester with incompatibility factors and plants from accessions were come to ear before stigmas emergence. Spikes from male testers and accessions were covered the day previous to pollination; the pollination were done manually between 12:00 and 14:00 h, time in which pollen is viable in Nextipac, Zapopan, Jalisco (Rodríguez *et al.*, 2006). The design was completely randomized blocks with one repetition. In the first two cycles were assessed 184 accessions with locus

Los probadores hembra dominante del locus *gal* (*Gal-S/Gal-S*) y del locus *tcb1* (*Tcb1-S/tcb1*), recibieron polen de cada accesión bajo prueba, y cada accesión recibió polen del probador macho recesivo (*gal/gal, tcb1/tcb1*). Las plantas del probador hembra con factores de incompatibilidad y las plantas de las accesiones se jilotearon antes de la emergencia de los estigmas. Las espigas de los probadores macho y de las accesiones se cubrieron el día anterior a la polinización; las polinizaciones se realizaron manualmente entre las 12:00 y 14:00 h, horario en que el polen es viable en Nextipac, Zapopan, Jalisco (Rodríguez *et al.*, 2006). El diseño fue de bloques completos al azar con una repetición. Los dos primeros ciclos fueron evaluados 184 accesiones con el locus *gal* y en el último ciclo 122 accesiones con el locus *tcb1*. Los probadores hembra se sembraron en tres fechas de siembra, y los probadores macho tuvieron hasta cinco fechas de siembra para lograr la coincidencia con la floración de las accesiones en estudio.

Crterios para detectar los alelos de incompatibilidad

Para detectar los alelos de los loci *gal* y *tcb1* se utilizaron los promedios de llenado de grano en mazorca con ambos tipos de probadores, macho recesivo y hembra dominante. Se ejecutaron tres etapas:

Etapa 1. Probador macho recesivo (sin alelos de incompatibilidad): cuando la accesión se polinizó con el probador macho recesivo y no hubo llenado de grano y además, los valores determinados con la prueba de Dunnett fueron estadísticamente iguales al control (0% de llenado de grano en la mazorca), se identificó la presencia de algún alelo de incompatibilidad (*Gal-S, Tcb1-S*). En el caso de formación de grano en la mazorca y cuando la prueba de Dunnett señaló valores estadísticamente iguales al control, con 100% de llenado de grano en la mazorca, se identificó la presencia de los alelos neutros (*Gal-m, Tcb1-m*) o recesivos (*gal, tcb1*), y se continuó con la etapa 2.

Etapa 2. Cruzamientos al probador hembra dominante *Gal-S/Gal-S*: una vez excluidas las accesiones con presencia de los alelos *Gal-S* o *Tcb1-S*, el siguiente paso fue llevar polen del material seleccionado a los probadores hembra dominantes. Cuando en el material de prueba se observó 100% de llenado de grano y fue estadísticamente igual al control se identificó la presencia del alelo *Gal-m*. Si el llenado de grano fue 0% y fue estadísticamente igual al control, se interpretó como accesión sin alelos de incompatibilidad.

gal and in the last cycle 122 accessions with locus *tcb1*. Female testers were planted in three planting dates, and male testers had up to five planting dates to achieve coincidence with flowering of studied accessions.

Criteria to detect incompatibility alleles

To detect alleles from loci *gal* and *tcb1* se averages of grain filling in ear were used with both types of markers, recessive male and dominant female. They were done in three stages:

Stage 1. Recessive male tester (without incompatibility alleles): when the accession was pollinated with male recessive tester and there was no grain filling and also, the values calculated with Dunnett test were statistically equal to control (0% of grain filling in ear), it was identified the presence of any incompatibility allele (*Gal-S, Tcb1-S*). In case of grain formation in ear and when Dunnett test pointed values statistically equal to control, with 100% of grain filling in ear, it was identified the presence of neutral alleles (*Gal-m, Tcb1-m*) or recessive (*gal, tcb1*), and it continued with stage 2.

Stage 2. Crossings to dominant female tester *Gal-S/Gal-S*: once the accessions with presence of alleles *Gal-S* or *Tcb1-S* were excluded, the following step was to take pollen from selected material to dominant female testers. When in test material was observed 100% of grain filling and it was statistically equal to control it was identified the presence of allele *Gal-m*. If grain filling was 0% and was statistically equal to control, it was interpreted like accession without incompatibility alleles.

Stage 3. Crossings to dominant heterozygous female tester (*Tcb1-S/-*): without considering the accessions with alleles *Gal-S* or *Tcb1-S* from Stage 1, then if grain filling was 0% and it was statistically equal to control, it was identified the presence of recessive allele *tcb1*. On the other hand, if grain filling was 100% and it was statistically equal to control, it was identified presence of allele *Tcb1-m*.

Results and discussion

In the analysis of variance of grain filling variable, the following results were obtained: in crossings with recessive testers (*gal/gal, tcb1/tcb1*) and dominant female testers (*Gal-S/Gal-S*) there were highly significant differences as well in breeds as in accessions within breeds; while in

Etapa 3. Cruzamientos al probador hembra heterocigote dominante (*Tcb1-S/-*): sin considerar las accesiones con alelos *Gal-S* o *Tcb1-S* de la Etapa 1, entonces si el llenado de grano fue 0% y fue estadísticamente igual al control, se identificó la presencia del alelo recesivo *tcb1*. En cambio, si el llenado de grano fue 100% y fue estadísticamente igual al control, se identificó la presencia del alelo *Tcb1-m*.

Resultados y discusión

En el análisis de variación de la variable llenado de grano, se obtuvieron los resultados siguientes: en las cruzas con los probadores recesivos (*gal/gal*, *tcb1/tcb1*) y los probadores hembra dominantes (*Gal-S/Gal-S*) hubo diferencias altamente significativas tanto entre razas como entre accesiones dentro de razas; mientras que en las cruzas con el probador hembra *Tcb1-S/-* las diferencias sólo fueron significativas entre razas (Cuadro 2). Los valores altos del coeficiente de variación para el caso del locus *tcb1* son debidos a que los porcentajes de llenado de grano son predominantemente ceros, con pocos casos cercanos a 50% (Cuadro 3). Los coeficientes de determinación fueron superiores a 0.8, valores que son considerados como reflejo de un modelo apropiado.

crossings with female tester *Tcb1-S/-* the differences were only significant between breeds (Table 2). And high values of variation coefficient for case of locus *tcb1* are due grain filling percentages are predominantly zero, with little cases near to 50% (Table 3). The determination coefficients were greater than 0.8, values that are considered like result of suitable model.

General average of grain filling in maize breeds with recessive male testers *gal/gal*, *tcb1/tcb1* and dominant female *Gal-S/Gal-S* was high, at 85 and 72% respectively (Table 3), while crossings with female tester *Tcb1-S/-* general average was very low (6%). In crossings of maize breeds with female tester *Gal-S/Gal-S*, very little breeds had grain filling in ear averages less than 20%, among them Azul, Bofo (Coreño), Cristalino de Chihuahua, Gordo, Harinoso de Ocho, Jala, Ratón, Tabloncillo, Tuxpeño Norteño and Zamorano Amarillo, while in crossings with female tester *Tcb1-S/-*, only breeds Elotes Occidentales and Maíz Dulce, had grain filling average greater than 20%.

With base in averages of grain filling from Table 3 and Dunnett tests, it was determined the presence of both incompatibility systems (*Gal-S* and *Tcb1-S*) in six maize breeds: Bolita, Dulcillo del Noroeste, Elotes Occidentales,

Cuadro 2. Análisis de varianza de los sistemas de incompatibilidad *gal* y *tcb1* en razas mexicanas de maíz con el probador macho recesivo y los probadores hembra dominantes (*Gal-S* y *Tcb1-S*), durante los ciclos 2007 a 2009. Zapopan, Jalisco, México.

Table 2. Analysis of variance of incompatibility systems *gal* and *tcb1* in maize Mexican breeds with recessive male tester and the dominant female testers (*Gal-S* and *Tcb1-S*), during 2007 to 2009 cycles. Zapopan, Jalisco, Mexico.

FV	GL	Probador macho recesivo			Locus <i>gal</i>			Locus <i>tcb1</i>		
		GL	CM		Probador hembra (<i>Gal-S/Gal-S</i>)		Probador hembra (<i>Tcb1-S/-</i>)			
Raza	57	12 408.74	**	56	4 241.3	**	54	0.5267	**	
Accesiones(Raza)	155	1 620.74	**	154	508.62	**	67	0.0498		
Error	419	268.63		156	180.76		83	0.1018		
Total	631			366			204			
CV		34.18			16.18			89.35		
R ²		0.9			0.9			0.8		

FV= fuente de variación; GL= grados de libertad; CM= cuadrado medio; CV= coeficiente de variación; R²= coeficiente de determinación; ** valor altamente significativo de 0.01 de probabilidad.

El promedio general de llenado de grano en las razas de maíz con los probadores macho recesivo *gal/gal*, *tcb1/tcb1* y hembra dominante *Gal-S/Gal-S* fueron altos, del

Maíz Dulce, Negrito and Reventador (Table 3), and in the remaining breeds there were detected any of the three variants of alleles from locus *gal*.

orden de 85 y 72% respectivamente (Cuadro 3), mientras que las cruzas con el probador hembra *Tcbl-S/-* el promedio general fue muy bajo (6%). En las cruzas de las razas de maíz con el probador hembra *Gal-S/Gal-S*, muy pocas razas tuvieron promedios de llenado de grano en mazorca menores que 20%, entre ellas Azul, Bofo (Coreño), Cristalino de Chihuahua, Gordo, Harinoso de Ocho, Jala, Ratón, Tabloncillo, Tuxpeño Norteño y Zamorano Amarillo, mientras que en cruzas con el probador hembra *Tcbl-S/-*, sólo las razas Elotes Occidentales y Maíz Dulce, tuvieron promedios de llenado de grano mayores que 20%.

Con base en los promedios de llenado de grano del Cuadro 3 y las pruebas de Dunnett, se determinó la presencia de ambos sistemas de incompatibilidad (*Gal-Sy Tcbl-S*) en seis razas de maíz: Bolita, Dulcillo del Noroeste, Elotes Occidentales, Maíz Dulce, Negrito y Reventador (Cuadro 3), y en el resto de las razas se detectaron cualquiera de las tres variantes de los alelos del locus *gal*.

The proportional presence of allele *Gal-S*, responsible of non-reciprocal incompatibility, was 53.8% of 184 accessions assessed from 54 breeds; in neutral allele *Gal-m*, compatible with any genotype of locus *gal*; 55.43% of accessions, and 15.76% with the allele *gal* (Table 4). Only two breeds from all accessions, Elotes Occidentales and Maíz Dulce, contain the dominant allele in homozygous state (*Gal-S*), together with other five breeds from at least one of their accessions Bofo, Chapalote, Dulcillo del Noroeste, Palomero de Chihuahua and Reventador. In eight breeds, all accessions were recessive homozygous (without incompatibility alleles) and they were: Azul, Bofo (Coreño), Cristalino de Chihuahua, Gordo, Ratón, Tabloncillo, Tuxpeño Norteño and Zamorano Amarillo; also in other breeds were recessive homozygous in at least one of their accessions Jala, Palomero de Chihuahua and Reventador (Table 3). De la Cruz (2007) reported in 71 accessions that 48% were *Gal-m/Gal-m*; 18% recessive and only 21% with allele *Gal-S*, also in heterozygous state *Gal-m/gal* with 13% versus 6.52% from this study (Table 4). Cántora (1963), from 229

Cuadro 3. Presencia de alelos de incompatibilidad de los loci *gal* y *tcb1* en las razas mexicanas evaluadas (en porcentajes del llenado de grano en mazorca).

Table 3. Presence of incompatibility alleles from loci *gal* and *tcb1* in assessed Mexican breeds (in percentages of grain filling in ear).

Raza	Probador macho recesivo	Probador hembra <i>Gal-S</i>	Probador hembra <i>Tcbl-S/-</i>	Alelos detectados	
				locus <i>gal</i>	locus <i>tcb1</i>
Ancho	100	56	0	<i>Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Apachito	83.3	26.7	0	<i>Gal-m, gal</i>	<i>tcb1</i>
Arrocillo Amarillo	100	75	0	<i>Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Azul	89.4	0	0	<i>gal</i>	<i>tcb1</i>
Bofo (Coreño)	62.5	2.5	-	<i>gal</i>	n.e.
Bofo	76.5	92.3	0	<i>Gal-m, Gal-S</i>	<i>tcb1</i>
Bolita	59.8	95.6	16.4	<i>Gal-m, Gal-S</i>	<i>Tcbl-S, tcb1</i>
Cacahuacintle	100	91	-	<i>Gal-m</i>	n.e.
Celaya	98.5	67.5	0	<i>Gal-m, gal</i>	<i>tcb1</i>
Chalqueño	87.2	100	2.5	<i>Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Chapalote	39.2	97.3	0	<i>Gal-S, Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Comiteco	100	94	0	<i>Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Complejo Serrano Jalisco	84	93.3	-	<i>Gal-m</i>	ne
Conejo	100	100	-	<i>Gal-m</i>	ne
Cónico	96.1	90.4	0	<i>Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Cónico Norteño	90	100	0	<i>Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Coscomatepec	93.3	100	0	<i>Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Cristalino Chihuahua	85.8	0	0	<i>gal</i>	<i>tcb1</i>
Dulcillo del Noroeste	31	94.3	16	<i>Gal-S, Gal-m</i>	<i>Tcbl-S, tcb1</i>
Dzit Bacal	100	83.3	0	<i>Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Elotero de Sinaloa	73.4	83.3	0	<i>Gal-m, Gal-S</i>	<i>tcb1</i>
Elotes Cónicos	68.1	100	0	<i>Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Elotes Occidentales	15.6	98.7	28.9	<i>Gal-S, Gal-m</i>	<i>Tcbl-S, tcb1</i>
Gordo	100	0	0	<i>gal</i>	<i>tcb1</i>
Harinoso de Ocho	86.7	18	0	<i>gal, Gal-m</i>	<i>tcb1</i>

ne=no evaluado.

Cuadro 3. Presencia de alelos de incompatibilidad de los loci *gal* y *tcb1* en las razas mexicanas evaluadas (en porcentajes del llenado de grano en mazorca) (Continuación).

Table 3. Presence of incompatibility alleles from loci *gal* and *tcb1* in assessed Mexican breeds (in percentages of grain filling in ear) (Continuation).

Raza	Probador macho recesivo	Probador hembra <i>Gal-S</i>	Probador hembra <i>Tcb1-S/-</i>	Alelos detectados	
				locus <i>gal</i>	locus <i>tcb1</i>
Jala	95.3	16.7	0	<i>gal, Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Maíz Blando de Sonora	97	56.7	0	<i>Gal-m, gal</i>	<i>tcb1</i>
Maíz Dulce	2.4	98.7	98.2	<i>Gal-S</i>	<i>Tcb1-S</i>
Motozinteco	97.8	100	-	<i>Gal-m</i>	ne
Mountain Yellow	95.8	84.7	-	<i>Gal-m</i>	ne
Mushito (Michoacan)	100	90.5	-	<i>Gal-m</i>	ne
Nal Tel	96.7	100	0	<i>Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Nal Tel de Altura	100	100	0	<i>Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Negrilo	59.8	97.9	71	<i>Gal-m, Gal-S</i>	<i>Tcb1-S</i>
Negro Chimaltenango	100	90	0	<i>Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Olotillo	86.7	100	0	<i>Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Olotón	100	83.3	0	<i>Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Onaveño	100	80	-	<i>Gal-m</i>	n.e.
Palomero de Chihuahua	42.5	75.5	0	<i>Gal-S, Gal-m, gal</i>	<i>tcb1</i>
Palomero Toluqueño	97.9	98.7	0	<i>Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Pepitilla	97.2	100	0	<i>Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Ratón	100	10	0	<i>gal</i>	<i>tcb1</i>
Reventador	68.7	84.8	34.2	<i>Gal-m, Gal-S, gal</i>	<i>Tcb1-S, tcb1</i>
Tablilla de Ocho	91.1	100	0	<i>Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Tabloncillo	98.3	5	0	<i>gal</i>	<i>tcb1</i>
Tabloncillo Perla	96.7	30	0	<i>gal, Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Tehua	100	100	-	<i>Gal-m</i>	ne
Tepecintle	92.1	100	0	<i>Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Tuxpeño	95.6	41.1	0	<i>Gal-m, gal</i>	<i>tcb1</i>
Tuxpeño Norteño	92.6	10	0	<i>gal</i>	<i>tcb1</i>
Vandeño	100	74	-	<i>Gal-m, gal</i>	ne
Zamorano Amarillo	96.3	0	0	<i>gal</i>	<i>tcb1</i>
Zapalote Chico	93.3	97.5	0	<i>Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Zapalote Grande	100	100	0	<i>Gal-m</i>	<i>tcb1</i>
Promedios	85.45	71.93	6.07		

ne=no evaluado.

La presencia proporcional del alelo *Gal-S*, responsable de la incompatibilidad no-recíproca, fue 53.8% de las 184 accesiones evaluadas de las 54 razas; en el alelo neutro *Gal-m*, compatible con cualquier genotipo del locus *gal*; 55.43% de las accesiones, y 15.76% con el alelo *gal* (Cuadro 4). Sólo dos razas en casi la totalidad de sus accesiones, Elotes Occidentales y Maíz Dulce, contienen el alelo dominante en estado homocigoto (*Gal-S*), junto con otras cinco razas en al menos una de sus accesiones Bofo, Chapalote, Dulcillo del Noroeste, Palomero de Chihuahua y Reventador. En ocho razas, todas las accesiones fueron homocigotas recesivas (sin alelos de incompatibilidad) y fueron: Azul, Bofo (Coreño), Cristalino de Chihuahua, Gordo, Ratón, Tabloncillo,

studied accessions, informed that detected 74% for *Ga* (probably *Gal-m/Gal-m*); 17% *gal/gal* recessive and only 3% for *Gal-S/Gal-S*. The results obtained in this research show that in maize Mexican breeds there is high presence of neutral allele *Gal-m*, which breaks reproductive isolation from those populations of homozygous maize for allele *Gal-S*.

Dominant allele *Tcb1-S* from locus *tcb1* was present in breeds Elotes Occidentales and Maíz Dulce; as well in some accessions of breeds: Bolita, Dulcillo del Noroeste, Negrilo and Reventador. The remaining breeds showed percentages lower than 3% of grain filling ear for recessive homozygous allele *tcb1* (Table 3).

Tuxpeño Norteño y Zamorano Amarillo; además en otras tres razas fueron homocigotas recesivas en al menos una de sus accesiones Jala, Palomero de Chihuahua y Reventador (Cuadro 3). De la Cruz (2007) reportó en 71 accesiones que 48% fueron *Gal-m/Gal-m*; 18% recesivas y sólo 21% con el alelo *Gal-S*, además en estado heterocigoto *Gal-m/gal* con 13% contra 6.52% del presente estudio (Cuadro 4). Cíntora (1963) de 229 accesiones estudiadas, informó que 74% para *Ga* (probablemente *Gal-m/Gal-m*); 17% recesivas *gal/gal* y sólo 3% para *Gal-S/Gal-S*. Los resultados obtenidos en esta investigación muestran que en las razas Mexicanas de maíz existe una alta presencia del alelo neutro *Gal-m*, el cual rompe el aislamiento reproductivo de aquellas poblaciones de maíz homocigotas para el alelo *Gal-S*.

El alelo dominante *Tcb1-S* del locus *tcb1* estuvo presente en las razas Elotes Occidentales y Maíz Dulce; así como en algunas accesiones de las razas: Bolita, Dulcillo del Noroeste, Negrito y Reventador. El resto de las razas presentó porcentajes menores a 3% de llenado de grano en mazorca para el alelo homocigoto recesivo *tcb1* (Cuadro 3).

En estudios anteriores Kermicle y Allen (1990), Kermicle (2006), Evans y Kermicle (2001) y Kermicle y Evans (2005) informaron la presencia de factores genéticos que limitaban el cruzamiento del maíz con el teocintle y lo denominaron Complejo de Incompatibilidad del Teocintle (TIC), responsable de la incompatibilidad no-recíproca. Asimismo, indicaron que TIC es único en teocintle y “podría estar jugando un papel muy importante en el aislamiento reproductivo entre el maíz y el teocintle”. Con base en el muestreo amplio de accesiones de maíz de todo México y la utilización de probadores apropiados, el sistema de incompatibilidad TIC se encontró en las razas de maíz: Bolita, Dulcillo del Noroeste, Elotes Occidentales, Maíz Dulce, Negrito y Reventador.

Las bases bioquímicas y genéticas para los sistemas de incompatibilidad en el género *Zea* son aún muy poco conocidas; no hay claridad si son genes individuales, o grupos de genes estrechamente ligados, e incluso existe la idea de que la fecundidad del grano de polen se ve afectada por genes expresados por ambos sistemas, tanto esporofítico como gametofítico (Bedinger y Fowler, 2009). Evans y Kermicle (2001) y Kermicle y Evans (2005) reportan que los genes de incompatibilidad conocidos en maíz y teocintle actúan independientemente y que la sola existencia de un alelo incompatible es suficiente para bloquear la fertilización, lo cual concuerda con este estudio, en que se las accesiones de maíz reaccionaron

Cuadro 4. Alelos detectados del locus *gal* y su representatividad proporcional del total de accesiones de las razas de maíz evaluadas.

Table 4. Alleles detected from locus *gal* and its proportional portion from total accessions of assessed maize breeds.

Combinación de alelo(s)	Accesiones	Porcentajes en las accesiones	Presencia proporcional de alelos (%) ^{1/}
<i>gal</i>	13	7.07	15.76 <i>gal</i>
<i>Gal-m, gal</i>	12	6.52	
<i>Gal-m</i>	60	32.61	55.44 <i>Gal-m</i>
<i>Gal-m, Gal-S</i>	30	16.31	
<i>Gal-S, gal</i>	4	2.17	
<i>Gal-S</i>	65	35.33	53.81 <i>Gal-S</i>
Totales	184	100%	125 %

^{1/}= suma total del alelo individual y combinado por accesiones.

In previous studies Kermicle and Allen (1990), Kermicle (2006), Evans and Kermicle (2001) and Kermicle and Evans (2005) informed the presence of genetic factors that limit maize crossing with teosinte and it was called Teosinte Incompatibility Complex (TIC), responsible of non-reciprocal incompatibility. Also, indicated that TIC is only in teosinte and “could be playing an important role in reproductive isolation between maize and teosinte”. Based in wide sampling of maize accessions from Mexico and usage of suitable testers, TIC incompatibility system was found in maize breeds: Bolita, Dulcillo del Noroeste, Elotes Occidentales, Maíz Dulce, Negrito and Reventador.

Biochemical and genetic bases for incompatibility systems in genera *Zea* are still little known; there is no certainty if are individual genes or grouped genes tightly related, and even there is the idea that pollen grain fecundity is affected by genes expressed by both systems, as well sporophytic as gametophytic (Bedinger and Fowler, 2009). Evans and Kermicle (2001) and Kermicle and Evans (2005) report that the known incompatibility genes in maize and teosinte act independently and that the simple presence of one incompatible allele is enough for blocking fertilization, which coincides with this study, in which maize accessions reacted to recognition or rejection of pollen grain, such reaction depends on genotype studied and from recessive male tester alleles (*gal/gal*, *tcb1/tcb1*). Kermicle *et al.* (2006) pointed out that incompatibility gametophytic

al reconocimiento o rechazo del grano de polen, esta reacción depende del genotipo en estudio y de los alelos del probador macho recesivo (*gal/gal*, *tcb1/tcb1*). Kermicle *et al.* (2006) señalaron que los factores gametofíticos de la incompatibilidad, además de ser agentes de aislamiento reproductivo, previenen la formación de híbridos mal adaptados y, además, mantienen la identidad de las razas, específicamente las razas Elotes Occidentales y Maíz Dulce de este estudio. Kermicle (2006) señaló que la presencia del gene *Tcb1-S*, con potencial de dispersión y fijación, podría añadir diversidad genética en las poblaciones de maíces locales, que concuerdan con los resultados del estudio reflejada en la variación existente entre razas como entre accesiones dentro de razas.

Los sistemas de incompatibilidad presentan un patrón definido dentro de los complejos raciales del maíz, especialmente en las razas Elotes Occidentales y Maíz Dulce (Figura 1); el origen de este sistema de incompatibilidad pudiera ser diferente al complejo de incompatibilidad del teocintle (TIC); sin embargo, se requerirán pruebas de alelismo detalladas y ubicación y secuencia de las regiones del genoma involucradas con dicho sistema a fin de considerarlo como *de novo*.

Las razas mexicanas que presentaron en la misma accesión los alelos *Tcb1-S* como *Gal-S* fueron: Dulcillo del Noroeste, Elotes Occidentales, Maíz Dulce y Reventador. Kermicle *et al.* (2006) señalaron que es posible que el alelo *Gal-S*, responsable de la incompatibilidad no-recíproca, sea en sí un modificador para el fortalecimiento de otros sistemas de barrera de incompatibilidad como el locus *tcb1* de manera independiente o de forma interactiva, faltan estudios adicionales para sustentar si el alelo *Gal-S per se*, un alelo modificador del alelo *Tcb1-S*, ya que los probadores de ambos locus del presente estudio fueron trabajados en forma separada y se obtuvo respuestas individuales por locus probado.

Conclusiones

Los genes responsables de la incompatibilidad no recíproca *Gal-S* y *Tcb1-S* fueron encontrados en seis de las razas mexicanas de maíz evaluadas con ambos sistemas de incompatibilidad en al menos una accesión de maíz (Bolita, Dulcillo del Noroeste, Elotes Occidentales, Maíz Dulce, Negro y Reventador), pero debido a la presencia en altas

factors, besides being reproductive isolation agents, prevent formation of hybrids with miss-adaptation and, also, keep breeds identity, specifically Elotes Occidentales and Maíz Dulce breeds from this study. Kermicle (2006) also mentioned that presence of gene *Tcb1-S*, with potential for dispersion and fixing, could add genetic diversity in local maize populations, which coincides with study results reflected in existing variation between breeds as well between accessions within breeds.

Incompatibility systems have a defined pattern within maize breed complexes, specially in breeds Elotes Occidentales and Maíz Dulce (Figure 1); the origin of this incompatibility system could be different to the origin of teosinte incompatibility complex (TIC); however, detailed allelic tests will be required and location and sequence from genome regions involved in such system in order to consider it *de novo*.

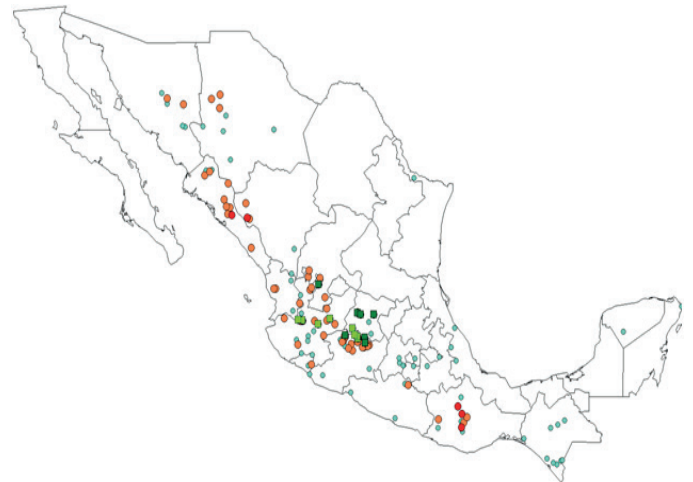


Figura 1. Distribución geográfica de los alelos de incompatibilidad *Gal-S* (●), TIC/-(●), TIC en Elotes Occidentales (■), TIC en Maíz Dulce (■) y de las accesiones sin alelos de incompatibilidad (●) en México.

Figure 1. Geographical distribution of incompatibility alleles *Gal-S* (●), TIC/-(●), TIC in Elotes Occidentales (■), TIC in Maíz Dulce (■) and from accessions without incompatibility alleles (●) in Mexico.

Mexican breeds that showed in same accession the alleles *Tcb1-S* as well as *Gal-S* were: Dulcillo del Noroeste, Elotes Occidentales, Maíz Dulce and Reventador. Kermicle *et al.* (2006) mentioned that is possible that allele *Gal-S*, responsible of non-reciprocal incompatibility, is in itself a modifier for strengthening of other systems for

proporciones del alelo neutro *Gal-m*, las barreras existentes en las razas de maíz y del teocintle basadas únicamente en el alelo *Gal-S* pueden no ser suficientes para evitar el flujo genético no deseado.

Se identificaron 16 accesiones de maíz de las razas Bolita, Dulcillo del Noroeste, Elotes Occidentales, Maíz Dulce, Negrito y Reventador, con frecuencias altas del alelo *Tcbl-S*; las cuales se localizan especialmente en el Occidente de México; resultados que demuestran que el sistema TIC no está presente sólo en el teocintle de México.

Literatura citada

- Bedinger, P. A. and Fowler, J. E. 2009. The maize male gametophyte. *In: handbook of maize: its biology*. Bennetzen, J. and Hake, S. (eds.). Springer. 57-75 pp.
- Castric, V. and Vekemans, X. 2004. Plant self-incompatibility in natural populations: a critical assessment of recent theoretical and empirical advances. *Mol. Ecol.* 13:2873-2889.
- Cíntora, O. C. 1963. Incompatibilidad no-recíproca en algunas colecciones mexicanas de maíz. Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad del Colegio de Graduados de la E. N. A. Chapingo, Estado de México. 39 p.
- Cruz-García F.; Hancock, C. N. and McClure, B. 2003. S-RNase complexes and pollen rejection. *J. Exp. Bot.* 54:123-130.
- De la Cruz, L. L. 2007. Sistemas de incompatibilidad genética en maíz y teocintle (*Zea* spp.) en México. Tesis de Doctorado. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara. México. 81 p.
- De la Cruz, L. L.; Sánchez, G. J. J.; Rodríguez, G. E.; Ron, P. J. y Santacruz, R. F. 2007. El factor gametofítico-1 (*gal*) en Teocintle (*Zea* spp.) en México. *Scientia-Cucba* 9:129-141.
- De la Cruz, L. L.; Sánchez, G. J. J.; Ron, P. J.; Santacruz, R. F.; Baltazar, M. B.; Ruíz, C. J. A. y Morales, R. M. 2008a. El factor gametofítico-1 (*gal*) en híbridos comerciales de maíz en México. *Rev. Fitotec. Mex.* 31:57-65.
- De la Cruz, L. L.; Sánchez, G. J. J.; Ron, P. J.; Santacruz, R. F.; Rodríguez, G. E.; Ruíz, C. J. A. y Morales, R. M. 2008b. Probadores de maíz para factores de incompatibilidad gametofítica. *Rev. Fitotec. Mex.* 31:341-349.
- incompatibility barrier like locus *tcb1* in an independent or interactive way. There are missing additional studies to prove if allele *Gal-S* *per se*, a modifier allele for *Tcbl-S*, since testers of both loci from this study were developed apart one from each other and individual responses per assessed locus were obtained.

Conclusions

Genes responsible of non reciprocal incompatibility *Gal-S* and *Tcbl-S* were found in six maize Mexican breeds assessed with both incompatibility systems in at least one maize accession (Bolita, Dulcillo del Noroeste, Elotes Occidentales, Maíz Dulce, Negrito and Reventador), but due presence in high rates of neutral allele *Gal-m*, the existing barriers in maize breeds and in teosinte based only in allele *Gal-S* could not be enough to avoid unwanted genetic flow.

16 maize accessions from breeds Bolita, Dulcillo del Noroeste, Elotes Occidentales, Maíz Dulce, Negrito and Reventador were identified, with high frequencies of allele *Tcbl-S*; which in particular are located in Western Mexico; the results show that TIC system is not only present in teosinte from Mexico.

End of the English version



- Evans, M. M. S. and Kermicle, J. L. 2001. Teosinte crossing barrier-1, a locus governing hybridization of teosinte with maize. *Theor Appl. Genet.* 103:259-265.
- Glémin, S.; Gaude, T.; Guillemin, M. L.; Lourmas, M.; Olivieri, I. and Mignot, A. 2005. Balancing selection in the wild: testing population genetics theory of self-incompatibility in the rare species *Brassica insularis*. *Genetics* 171:279-289.
- Kermicle, J. L. and Allen, J. O. 1990. Cross-incompatibility between maize and teosinte. *Maydica* 35:399-408.
- Kermicle, J. L. and Evans, M. M. S. 2005. Pollen-pistil barriers to crossing in maize and teosinte result from incongruity rather than active rejection. *Sex Plant Reprod* 18:187-194.
- Kermicle, J. L. 2006. A selfish gene governing pollen-pistil compatibility confers reproductive isolation between maize relatives. *Genetics* 172:499-506.

- Kermicle, J. L.; Taba, S. and Evans, M. M. S. 2006. The gametophyte-1 locus and reproductive isolation among *Zea mays* subspecies. *Maydica* 51:219-226.
- Kermicle, J. L. and Evans, M. M. S. 2010. The *Zea mays* sexual compatibility gene *ga2*: naturally occurring alleles, their distribution, and role in reproductive isolation. *J. Heredity* 101:1-13.
- Matsuoka, Y.; Vigourous, Y.; Goodman, M. M.; Sánchez, G. J.; Buckler, E. S. and Doebley, J. F. 2002. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99:6080-6084.
- Matsubara, K.; Thidar, K. and Sano, Y. 2003. A gene block causing cross-incompatibility hidden in wild and cultivated rice. *Genetics* 165:343-352.
- Nelson, O. E. 1996. The gametophyte factors of maize. *In: the maize handbook*. Freeling, M. and Walbot, M. (Eds.). Springer-Verlag. New York/Berlín. 496-453 pp.
- Palau-del-màs, M.; Peñas, G.; Melé, E.; Serra, J.; Salvia, J.; Pla, M.; Nadal, A. and Messeguer, J. 2009. Effect of volunteers on maize gene flow. *Transgenic Research* 18:583-94.
- Pickup, M. and Young, A. G. 2008. Population size, self-incompatibility and genetic rescue in diploid and tetraploid races of *Rutidosia leptorrhynchoides* (Asteraceae). *Heredity* 100:268-274.
- Rice, E. B.; Smith, M. E.; Mitchell, S. E. and Kresovich, S. 2006. Conservation and change: a comparison of In situ and *ex situ* conservation of Jala maize germplasm. *Crop Sci.* 46:428-436.
- Rodríguez, F. J. G.; Sánchez, G. J. J.; Baltazar, B. M.; De la Cruz, L. L.; Santacruz, R. F.; Ron, P. J.; Schoper, J. B. 2006. Characterization of floral morphology and synchrony among *Zea* species in Mexico. *Maydica* 51:383-398.
- Ruiz, C. J. A.; Durán, P. N.; Sánchez, G. J. J.; Ron, P. J.; González, E. D. R.; Holland, J. B. and Medina, G. G. 2008. Climatic adaptation and ecological descriptors of 42 Mexican maize races. *Crop Sci* 48:1502-1512.
- Sánchez, G. J. J.; Goodman, M. M. and Rawlings, J. O. 1993. Appropriate characters for racial classification in maize. *Econ. Bot.* 47:44-59.
- Sánchez, G. J. J.; Goodman, M. M. and Stuber, C. W. 2000. Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Econ. Bot.* 54:43-59.
- Statistical Analysis System (SAS Institute Inc). 1992. SAS/STAT software: changes and enhancements. SAS Institute Inc., Cary, N. C: SAS Institute Inc.
- Wellhausen, E. J.; Roberts, L. M.; Hernández, X. E. and Mangelsdorf, P. C. 1952. Races of maize in Mexico: their origin, characteristics and distribution. The Bussey Institution of Harvard University. 223 p.