



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

CARACTERIZACIÓN DE LAS RAZAS CRIOLLAS E INDÍGENAS DE MAÍZ COLOMBIANO POR MEDIO DE MARCADORES MOLECULARES SSR

JOSÉ RENÉ JIMÉNEZ CARDONA
Ingeniero Agrónomo

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Departamento de Ciencias Biológicas
Palmira, Colombia
2014

CARACTERIZACIÓN DE LAS RAZAS CRIOLLAS E INDÍGENAS DE MAÍZ COLOMBIANO POR MEDIO DE MARCADORES MOLECULARES SSR

JOSÉ RENÉ JIMÉNEZ CARDONA
Ingeniero Agrónomo

Trabajo de investigación presentado como requisito para optar por el título de:
Magister en Ciencias Biológicas

Directora:

CREUCI MARIA CAETANO DSc.

Codirector:

JHON ALBEIRO OCAMPO PÉREZ Ph.D.

Línea de Investigación:

RECURSOS FITOGENÉTICOS NEOTROPICALES

Grupo de Investigación:

RECURSOS FITOGENÉTICOS NEOTROPICALES (GIRFIN)

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Departamento de Ciencias Biológicas
Palmira, Colombia
2014

Resumen

Empleando 10 marcadores moleculares SSR (Simple Sequence Repeats) seleccionados por su grado de polimorfismo para *Zea mays*, se evaluó la variación genética presente en 165 accesiones de las razas criollas e indígenas y variedades locales colombianas, divididas en dos colecciones de trabajo. La primera corresponde a 62 accesiones repatriadas desde el banco de germoplasma del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), colectadas en 1950. La segunda corresponde a 103 accesiones colectadas entre 2007 y 2013 por el Grupo de Investigación en Recursos Fitogenéticos Neotropicales (GIRFIN) de UNAL-Palmira e ICA (Instituto Colombiano Agropecuario), incluyendo como testigos un maíz Negro peruano (recurso actualmente empleado por algunos agricultores de Colombia) y *Tripsacum* (considerado un pariente silvestre distante del maíz). El mayor número alélico (NA) lo presentó la región phi072 con siete alelos diferentes y el menor NA, phi115, con tres alelos. En total se encontraron 47 alelos de los cuales 37 son comunes para ambas poblaciones y que se han mantenido a través del tiempo. Tres son exclusivos para la población CIMMYT, implicando una pérdida alélica generada posiblemente por fuerzas de selección a través del tiempo. Siete son exclusivos para la población GIRFIN, manifestando una ganancia alélica en la nueva población, uno de ellos considerado raro para GIRFIN. Negro peruano y *Tripsacum* comparten sus alelos con las dos poblaciones evaluadas a excepción de dos alelos hallados en la región umc1719, presentes únicamente en *Tripsacum*. Ambas poblaciones presentaron un déficit de heterocigotos implicando un desequilibrio de Hardy-Weinberg, resultado de la selección y domesticación de cada material. Las poblaciones presentaron una moderada diferenciación genética ($F_{ST}=0.06^{**}$) revelando que los genotipos se han mantenido a través del tiempo con pequeños cambios. Las razas de la población GIRFIN con mayor variabilidad alélica fueron Común, seguido de Sabanero, Costeño y Montaña. La raza con menor aporte alélico fue Cariaco. En el caso de CIMMYT la mayor variabilidad se presentó en Chococéño, Común y Costeño, y la raza con menor aporte fue Puya. La raza más distante genéticamente de la población GIRFIN es Puya, mientras las que presentaron mayor similitud fueron Cariaco y Clavo. La raza más distante en la población CIMMYT fue Chococéño, y las que presentaron mayor similitud se encontró entre Andaquí y Puya. Al analizar la varianza molecular de las dos poblaciones y sus diferentes niveles evaluados, se observó que existe una mayor variación genética dentro de las poblaciones que entre las poblaciones evaluadas.

Palabras clave: *Zea mays*, variabilidad genética, microsatélites, *Tripsacum*.

Abstract

By using 10 molecular markers SSR (Simple Sequence Repeats) selected for their degree of polymorphism for *Zea mays*, the genetic variation present in 165 accessions of Colombian races and local varieties, divided into two work collections. The first one comprises 62 introductions repatriated from the gene bank of the International Center for Maize and Wheat Improvement (CIMMYT), collected in 1950 and the second corresponds to 103 introductions collected between 2007 and 2013 by the Neotropical Plant Genetic Resources Research Group (GIRFIN) of UNAL and by ICA, a Peruvian Black Corn (resource currently used by some Colombian farmers) and *Tripsacum* (distant wild relative of maize) were included as witnesses. The highest number of alleles (NA) was presented by the phi072 region with seven different alleles and the lower NA, by phi115, with three alleles. In total, 47 different alleles were found, 37 being common to both populations and were maintained over time. Three are private to the CIMMYT population, implying a possibly allelic loss generated by selection forces over time. Seven are private for GIRFIN population expressing an allelic gain in the new population; one of these considered a rare allele. Peruvian Black Corn and *Tripsacum* share their alleles with the two populations tested except two alleles found in the region umc1719, present only in *Tripsacum*. Both populations showed a deficit of heterozygotes involving an imbalance of Hardy-Weinberg, resulting of selection and domestication of each material. The populations showed a moderate genetic differentiation ($F_{ST} = 0.06^{**}$), which reveal that genotypes were maintained over time with small changes. The races of GIRFIN population with most allelic variability were Común, followed by Sabanero, Costeño and Montaña. The race with less allelic contribution was Cariaco. For CIMMYT population increased variability occurred in Chococeno, Common and Costeño, and the race with less contribution was Puya. The race genetically more distant from the GIRFIN population was Puya, while those showing greatest similarity were Cariaco and Clavo. The most distant race on CIMMYT population was Chococeno, and those that showed the highest similarity were Andaquí and Puya. By analyzing the molecular variance of the two populations and the different levels evaluated, there is a greater genetic variation within individuals than between populations.

Keywords: *Zea mays*, genetic variability, microsatellites, *Tripsacum*.

Contenido

	Pág.
Resumen	V
Lista de figuras.....	IX
Lista de tablas	X
Lista de Símbolos y abreviaturas.....	XII
Introducción.....	1
1. Planteamiento del problema.....	7
1.1 Hipótesis.....	7
1.1.1 Objetivos.....	7
1.1.2 Objetivo General	7
1.1.3 Objetivo Específicos.....	7
1.1.4 Marco Teórico	8
1.1.5 Origen y Distribución	8
1.1.6 Marcadores Moleculares Tipo SSR.....	10
1.1.7 Diseño Metodológico.....	12
2. Identificación de los microsatélites de alto PIC para las poblaciones GIRFIN y CIMMYT incluidas en este estudio.	17
2.1 Introducción	17
2.2 Metodología.....	17
2.3 Resultados y Distribución	18
2.4 Conclusiones.....	20
3. Evaluación de la diversidad genética de muestras de maíces criollos e indígenas GIRFIN Y CIMMYT empleando marcadores SSR	21
3.1 Introducción	21
3.2 Metodología.....	21
3.3 Resultados y Distribución	22
3.3.1 Evaluación para las poblaciones GIRFIN y CIMMYT	22
3.3.2 Evaluación por departamentos de las poblaciones GIRFIN y CIMMYT.....	24
4. Distancias genéticas generadas mediante el índice de Nei 1972, para los 17 departamentos evaluados en la población GIRFIN.....	29
4.1.1 Evaluación por razas de las poblaciones CIMMYT y GIRFIN	34
5. Conclusiones y Discusión.....	43

5.1	Discusión y Conclusiones Generales	44
A.	Anexo: Pasaporte de accesiones repatriadas de CIMMYT (1950).	47
B.	Anexo: Pasaporte de accesiones GIRFIN (2008 – 2013)	49
	Referencia Bibliográfica	53

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1 Razas de maíz criollo e indígena en Colombia	3
Figura 2 Distribución ecogeográfica actual de los maíces criollos e indígenas en Colombia.....	4
Figura 4 Marcador molecular tipo microsatélites SSR.....	16
Figura 6. Dendrograma de la población GIRFIN; empleando la distancia mínima no sesgada de Nei (1978).	31
Figura 7. Dendrograma de la población CIMMYT; empleando la distancia mínima no sesgada de Nei (1978).	33
Figura 8. Dendrograma de la población GIRFIN; empleando la distancia mínima no sesgada de Nei (1972).	41
Figura 9. Dendrograma de la población CIMMYT; empleando la distancia mínima no sesgada de Nei (1972).	42

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1-1 Clasificación taxonómica del maíz (Bianchi <i>et al.</i> , 1989).....	8
Tabla 1-2. Clasificación y distribución geográfica de las 23 razas indígenas y criollas de maíz en Colombia (Roberts <i>et al.</i> , 1957).....	9
Tabla 1-3 Cebadores SSR empleados para determinar polimorfismo en razas criollas e indígenas de maíz.....	13
Tabla 1-4 Coctel empleado para la PCR para N=1.	13
Tabla 1-5 Perfil térmico de amplificación para los SSR empleados en el estudio de las razas colombianas de maíz.....	14
Tabla 1-6. Soluciones para el proceso de tinción de los productos PCR.	15
Tabla 2-1	19
Tabla 3-1. Estadística descriptiva para los grupos CIMMYT y GIRFIN: número máximo de alelos (NA); número total de alelos (NTA); número promedio de alelos (NPA); número efectivo de alelos (Ne); tamaño de la muestra (N).	22
Tabla 3-2. Alelos privados presentes en una población pero no en la otra; según la frecuencia alélica menor al 5% se subrayan los alelos raros.....	23
Tabla 3-3 Estadística descriptiva para las poblaciones CIMMYT y GIRFIN: heterocigosidad observada y esperada (Ho-He) e índice de fijación de Wright (F_{IS}).	24
Tabla 3-4. Estadística descriptiva para los departamentos de cada población evaluada (GIRFIN, CIMMYT): número máximo de alelos (NA); número total de alelos (NTA); número promedio de alelos (NPA); número efectivo de alelos (Ne); tamaño de la muestra (N).....	24
Tabla 3-5. Estadística descriptiva para los departamentos de la población CIMMYT y GIRFIN: heterocigosidad observada y esperada (Ho-He); índice de fijación de Wright (F_{IS}).....	26
Tabla 4-1. Distancias genéticas generadas mediante el índice de Nei 1972, para los 17 departamentos evaluados en la población GIRFIN.	29
Tabla 4-2 Distancias genéticas generadas mediante el índice de Nei 1972, para los 11 departamentos evaluados en la población CIMMYT.	30
Tabla 4-3. Estadística descriptiva para las razas de cada población CIMMYT y GIRFIN.	35
Tabla 4-4. Estadística descriptiva para las razas de las poblaciones CIMMYT y GIRFIN.	36
Tabla 4-5. Distancias genéticas generadas mediante el índice de Nei (1972), para las siete razas evaluadas en la población GIRFIN.....	38

Tabla 4-6. Distancias genéticas generadas mediante el índice de Nei (1972), para las 18 razas evaluadas en la población CIMMYT.....	39
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Lista de Símbolos y abreviaturas

Símbolo	Término
<i>ADN</i>	Ácido Desoxirribonucleico
<i>AFLPs</i>	Polimorfismo en Longitud de Fragmentos Amplificados (técnica Molecular)
<i>Bp</i>	Pares de Bases
<i>BSA</i>	Albumina de suero Bovino
<i>CIMMYT</i>	Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo
<i>F_{is}</i>	Índice de fijación, también conocido como Coeficiente de endogamia
<i>F_{IT}</i>	Desviación del equilibrio en la población total
<i>F_{ST}</i>	Variación estándar Wright (Grado de consanguinidad de la subpoblación)
<i>GIRFIN</i>	Grupo de Investigación en Recursos Fitogenéticos Neotropicales
<i>He</i>	Heterocigosidad esperada
<i>Ho</i>	Heterocigosidad observada
<i>H-W</i>	Hardy – Weinberg
<i>ICA</i>	Instituto Colombiano Agropecuario
<i>N</i>	Tamaño de la muestra
<i>NA</i>	Número máximo de alelos
<i>Ne</i>	Número efectivo de alelos
<i>NPA</i>	Número promedio de alelos
<i>NS</i>	No significativo
<i>NTA</i>	Número total de alelos
<i>PIC</i>	Contenido de información polimórfica
<i>PCR</i>	Reacción en cadena de la polimerasa
<i>P()</i>	Probabilidad
<i>RA</i>	Riqueza alélica
<i>RAPDs</i>	Amplificación Aleatoria de ADN Polimórfico (técnica Molecular)
<i>RFLPs</i>	Polimorfismo de longitud de Fragmentos de Restricción (técnica Molecular)
<i>SSR</i>	Secuencias repetitivas simples
<i>TTPGA</i>	Herramientas para el Análisis de Genética de Poblaciones (Software)
<i>UNAL- Palmira</i>	Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira
<i>UPGMA</i>	Media Aritmética usando el Método del Grupo Par sin ponderar (Algoritmo)

Introducción

La evaluación de la variabilidad genética de las razas criollas e indígenas y variedades locales de maíz en Colombia es de gran importancia para la generación de estrategias de conservación, valoración y uso de estos recursos que históricamente han estado arraigados a las tradiciones y culturas de las comunidades locales.

El maíz es uno de los más importantes Recursos Fitogenéticos utilizado en la Alimentación y la Agricultura (RFGAA) de las comunidades tradicionales e indígenas en Suramérica. En esta región, considerada uno de los centros de diversificación del cultivo, las culturas precolombinas establecieron una relación de interdependencia hombre-maíz que se mantiene hasta nuestros días (Caetano, 2003).

La variabilidad genética de maíz constituye una riqueza para la población mundial, y puede ser una base para lograr la soberanía alimentaria, en especial ante los cambios climáticos (Preciado-Montes, 2011). Evaluar la diversidad en maíces nativos es importante para el planteamiento de estrategias de conservación, caracterización y uso del germoplasma en mejoramiento genético, dado su potencial como fuente de características nuevas, exóticas y favorables (Bedoya et al., 2013).

Los marcadores moleculares se han empleado extensamente para caracterizar la diversidad genética y en la descripción de la estructura genética de poblaciones, por tener una alta confiabilidad, reproducibilidad y automatización (Bedoya et al., 2010). Se han usado para caracterizar materiales mejorados, complejos genéticos, variedades de polinización abierta y materiales nativos (Wen et al., 2012).

Dentro de los marcadores, los microsatélites SSR (Simple Sequence Repeats) son secuencias cortas de nucleótidos (2 – 6 bp), que se repiten en tándem y de forma aleatoria, cuyas secuencias adyacentes permiten ser amplificadas mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), con el uso de iniciadores. Los SSR se caracterizan por ser altamente polimórficos y cuentan con una ventaja sobre otros marcadores debido a su carácter codominante, lo que le permite diferenciar entre un genotipo homocigoto dominante de un heterocigoto (Xu et al. 2004; Kosman et al., 2005), son precisos y de bajo costo (Jones 2007). Estos marcadores se encuentran generalmente en regiones no

codificantes del genoma, distribuidos uniformemente (Goldstein & Schlotterer, 1999). Se distribuyen al azar a lo largo del genoma, son loci específicos y multialélicos, se heredan de manera mendeliana, son somáticamente estables (Junjian et al., 2002).

Debido a su excepcional variabilidad y relativa facilidad de análisis las secuencias microsatélites son consideradas los marcadores genéticos más poderosos (Goldstein 1997). Además, producen mayor información que otros tipos de marcadores como AFLPs, RAPDs y RFLPs en términos de número de alelos por locus (Russell, 1997).

El maíz puede ser cultivado en todo el territorio colombiano; crece desde el nivel del mar, en las costas del norte y del occidente, hasta en alturas de más de 3000 metros, en las elevadas serranías. Su cultivo se realiza en condiciones extremas desde el punto de vista de la precipitación, como en la península de la guajira que tiene un régimen de lluvias muy pobre, o como en el departamento del Chocó, que tiene uno de los índices de lluvia más elevados del globo. Colombia es un país tropical montañoso que se caracteriza por tener una gran diversidad biológica, gracias a que cuenta con una alta variación ecológica, climática, geográfica y de condiciones culturales, las cuales favorecieron la variación y la evolución de plantas silvestres y domesticadas.

Roberts et al. (1957) reconocieron 23 razas para Colombia (Figura 1), clasificadas en tres categorías raciales. La primera categoría incluye las “Razas Primitivas” Pollo y Pira, que presentan características como granos cristalinos, pequeños, del tipo reventón; mazorcas pequeñas, plantas bajas y relativamente precoces.

La segunda categoría, la cual fue denominada como “Probablemente Introducidas” Pira Naranja, Clavo, Güira, Maíz Dulce, Maíz Harinoso Dentado, Cariaco, Andaquí, Imbricado y Sabanero, corresponden al germoplasma introducido desde otros países hacia Colombia, como Ecuador, Perú, Venezuela, Brasil, o desde Centro y Norteamérica.

Por último, están las “Híbridas Colombianas” Cabuya, Montaña, Capio, Amagaceño, Común, Yucatán, Cacao, Costeño, Negrito, Puya, Puya Grande y Chococeño, resultantes de procesos de hibridación sobre todo entre las probablemente Introducidas.

Figura 1 Razas de maíz criollo e indígena en Colombia

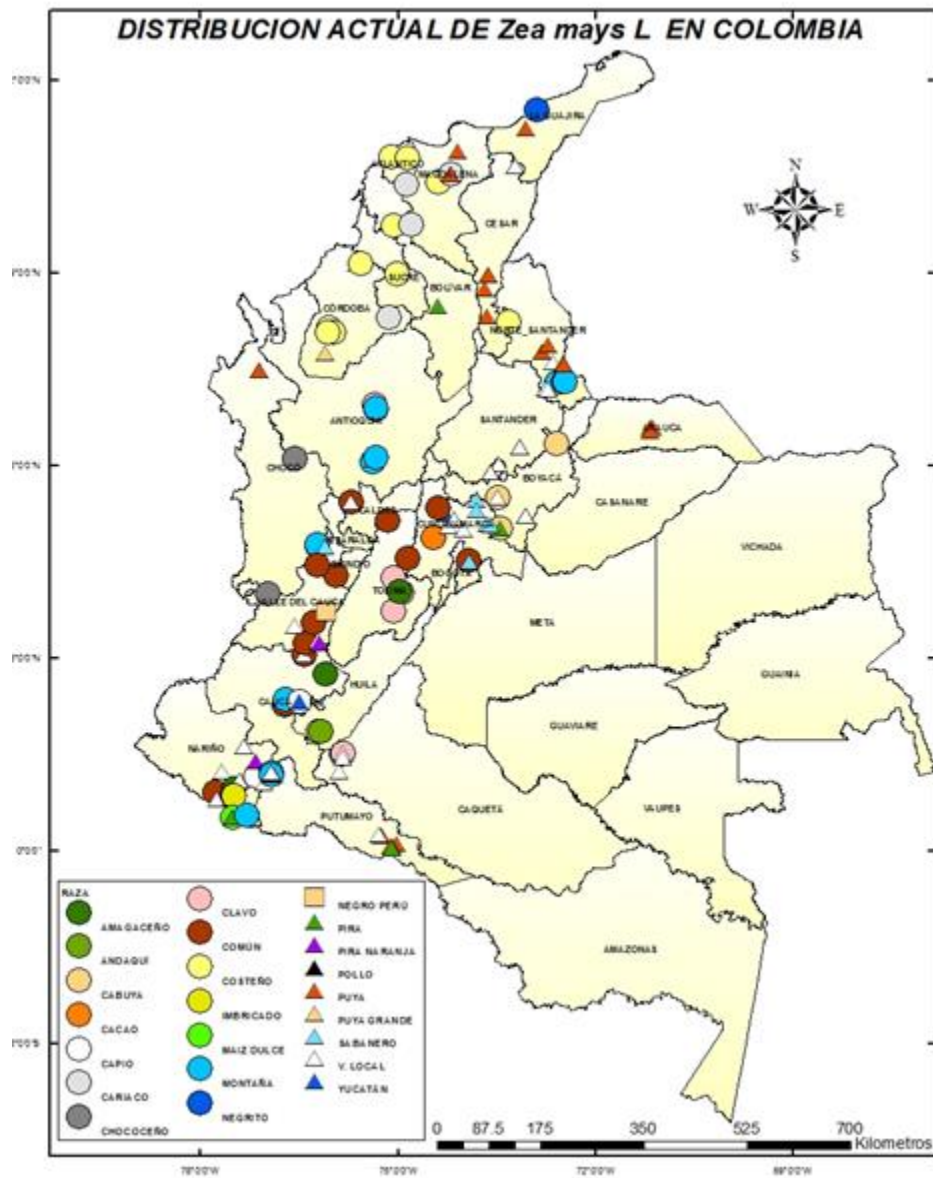
Razas de maíz criollo e indígena en Colombia descritas por Roberts et al. (1957). a. Pira; b. Pollo; c. Pira Naranja; d. Negro; e. Amagaceño; f. Cabuya; g. Imbricado; h. Maíz Dulce; i. Montaña; j. Sabanero; k. Guirua; l. Cariaco; m. Común; n. Cacao; o. Costeño; p. Puya; q. Puya Grande; r. Chococeño; s. Andaquí; t. Clavo; u. Yucatán; v. Maíz Harinoso Dentado; x. Capio. (Fotos: Caetano et al., 2014/GIRFIN).

Los factores que contribuyeron a la formación de estas razas son el aislamiento geográfico, la hibridación interracial, hibridación con maíces contaminados con teocinte procedentes de México e hibridación del maíz con su pariente silvestre *Tripsacum* (Roberts et al., 1957). La distribución ecogeográfica actual de las razas criollas e indígenas de maíz en Colombia (Figura 2) está directamente relacionada con su gran diversidad de expresiones culturales y ha mantenido el mismo patrón de distribución de los años 50.

Estos recursos fitogenéticos son principalmente conservados por las diferentes comunidades indígenas por su valor de uso (alimenticio, cultural y/o religioso); su escasez puede ser explicada por la adquisición de una variedad con características más

interesantes o por la hibridación con otro material, generando cambio en el germoplasma. Algunas variedades locales encontradas en el muestreo de 2007-2013 presentan características sobresalientes, y podrán ser fuentes génicas útiles para contrarrestar las adversidades del cambio climático (Caetano et al., 2014).

Figura 2 Distribución ecogeográfica actual de los maíces criollos e indígenas en Colombia



Distribución ecogeográfica actual de los maíces criollos e indígenas en Colombia según la categorización de Roberts et al. (1957) y de variedades locales, en proceso de identificación. Fuente: Caetano et al. (2014).

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue caracterizar la variación genética presente en las razas criollas e indígenas y variedades locales de maíz en Colombia, mediante el uso de marcadores moleculares SSR empleando 165 accesiones conservadas en el banco de ADN de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira (UNAL-Palmira), las cuales se dividen en dos colecciones de trabajo.

La primera corresponde a 61 accesiones repatriadas por el GIRFIN desde el banco de germoplasma del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), colectadas en los años 50 por el Ministerio de Agricultura y la segunda colección corresponde a 103 accesiones colectadas entre 2008-2013 por el Grupo de Investigación en Recursos Fitogenéticos Neotropicales (GIRFIN) de UNAL-Palmira e ICA. Con esta evaluación se espera que toda la variabilidad o diversidad no explicada por otras herramientas metodológicas, para las razas de maíz criollo e indígena y variedades locales colombianas, pueda ser dilucidada.

1. Planteamiento del problema

No es muy claro el estado actual de la variabilidad genética que presentan las razas criollas e indígenas y variedades locales de maíz en Colombia. Existen investigaciones en donde se evalúan materiales comerciales de maíz aplicando SSR y AFLPs, sin embargo hace falta profundizar en el conocimiento de la estructura genética, la riqueza alélica y nucleotídica de las razas criollas e indígenas y variedades locales del país para la generación de estrategias de conservación, valoración y uso de estos recursos fitogenéticos que, a través de la historia, han estado arraigados a las tradiciones y culturas de las comunidades locales. Además se debe evaluar la pérdida, conservación o ampliación de la variabilidad existente en los materiales colectados recientemente, comparando con las colectas de 1950.

1.1 Hipótesis

Existe amplia diversidad genética en las razas criollas e indígenas y de las variedades de maíz en Colombia.

1.1.1 Objetivos

1.1.2 Objetivo General

Caracterizar y analizar la variabilidad genética presente en las razas criollas e indígenas y variedades locales de maíz en Colombia, empleando marcadores moleculares tipo SSR.

1.1.3 Objetivo Específicos

1. Caracterizar 165 accesiones de razas criollas e indígenas y variedades locales de maíz de Colombia empleando marcadores moleculares tipo SSR

2. 2. Comparar la variabilidad genética de las accesiones de maíz colectadas recientemente, con las colectadas en la década de 1950

1.1.4 Marco Teórico

El maíz pertenece al género *Zea*, que incluye formas cultivadas conocidas como maíz de la especie *Zea mays* L. clasificado por Linneo en 1748 (Tabla 1) y formas silvestres denominadas teocintes perenes (*Z. mexicana* según Schrader; *Z. perennis* según Hitchcock; *Z. diploperennis* según Doebley & Guzmán en 1980). Entre las Maydeae además del género *Zea*, también se encuentran los géneros *Euchlaena* y *Tripsacum* los cuales son de origen andino y *Coix*, *Chionachne*, *Polytoca*, *Scherachne* y *Triobachne*, de origen asiático (Rusell & Hallauer, 1980).

Tabla 1-1 Clasificación taxonómica del maíz (Bianchi *et al.*, 1989).

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Subclase	Commelinidae
Orden	Poales
Familia	Poaceae (Gramineae)
Subfamilia	Panicoideae
Tribu	Andropogoneae
Género	<i>Zea</i>
Especie	<i>Z. mays</i>
Nombre Científico	<i>Zea mays</i> L.

1.1.5 Origen y Distribución

El maíz (*Zea mays* L.) es originario del continente americano. La evidencia arqueológica más antigua sobre la existencia de este cereal indica que tiene aproximadamente 5000 años de antigüedad. Representaciones de la planta o sus partes en esculturas, códices,

cerámicas y en estudios de fósiles encontrados, indican que el maíz tuvo su origen geográfico en México, especialmente en el valle de Tehuacán, Puebla y el norte del estado de Oaxaca. En México inició su domesticación y posterior dispersión a otras regiones del continente, hacia el norte hasta Canadá y el sur hasta Argentina. A finales del siglo XV, tras la llegada al continente americano por Cristóbal Colón, el grano fue introducido en Europa a través de España (Reyes, 1990).

México es considerado como el centro de origen y domesticación, y uno de los centros más importantes de diversidad del maíz (Matsuoka et al., 2002). En México existen diversos registros de teocinte, lo cual lo convierte en un lugar de diversificación por estar en contacto con el posible ancestro del maíz (Vavilov, 1992). Así mismo, recientemente se ha registrado la presencia de *Tripsacum*, el cual se ha visto que podría ser también un ancestro del maíz (Rendón et al., 2008).

Los centros secundarios de aclimatación se sitúan en la región Andina y Centro América, en donde se ha observado gran diversidad genética. Es un cereal que se adapta a diversas condiciones ecológicas y edáficas (Basantes, 2011). El maíz se originó en zonas tropicales, pero su cultivo se ha extendido a una diversidad de ambientes. Crece desde regiones con 58° N hasta 35°-45° N (Acquaah, 2007), clasificándose en dos grandes grupos: maíz de zona tropical y maíz de zona templada. El tropical a su vez abarca tres subclases de acuerdo a la altitud y ambiente en el que se le cultive: de tierras bajas, media altitud y de zonas altas (Paliwal, 2001). En la Tabla 2 se muestra la distribución geográfica por departamentos, de las diferentes razas reportadas para Colombia.

Tabla 1-2. Clasificación y distribución geográfica de las 23 razas indígenas y criollas de maíz en Colombia (Roberts *et al.*, 1957).

Clasificación	Raza	Ubicación geográfica
Primitivas	Pollo	Boyacá y Cundinamarca
	Pira	Cundinamarca, Tolima, Huila, Nariño y Valle del Cauca.
Probablemente Introducidas	Pira Naranja	Nariño.
	Clavo	Nariño, Tolima, Caldas, Norte de Santander y Chocó.
	Güirua	Magdalena.
	Maíz Dulce	Nariño.

	Maíz Harinoso	Cundinamarca, Nariño y Tolima.
	Dentado	
	Cariaco	Costa Atlántica y valles de los ríos Cauca y Magdalena.
	Andaquí	Meta y valle del alto Magdalena.
	Imbricado	Nariño.
	Sabanero	Cordillera oriental.
	Cabuya	Cordillera oriental.
	Montaña	Cordillera central (Antioquia y Nariño).
	Capio	Cordillera central (Antioquia y Nariño).
	Amagaceño	Zonas frías de las tres cordilleras: Nariño, Cauca, Valle, Huila, Caldas, Antioquia, Cundinamarca, Boyacá, Chocó y Santander.
Híbridas Colombianas	Común	Valles de los ríos Magdalena y Cauca.
	Yucatán	Valle del alto Magdalena (Cundinamarca y Tolima).
	Cacao	Santanderes, Cundinamarca y Boyacá.
	Costeño	Costa Atlántica.
	Negrito	Atlántico y Magdalena.
	Puya	Vertiente oriente del río Magdalena, y norte del país hasta la península de La Guajira.
	Puya Grande	Norte de Santander y frontera con Venezuela.
	Chococeño	Costa Pacífica.

1.1.6 Marcadores Moleculares Tipo SSR

Los marcadores moleculares tienen la ventaja de identificar altos niveles de polimorfismo, no tienen interacción con el ambiente, y pueden ser aplicados en cualquier estado de desarrollo de una planta (Souza, 2008). Un marcador molecular ideal es aquel que es altamente polimórfico, codominante, preciso, reproducible, y de bajo costo (Jones, 2007). La codominancia de un marcador ofrece una ventaja frente a los otros marcadores porque permite distinguir individuos homocigotos de heterocigotos (Kosman et al., 2005).

Los SSR (Simple Sequence Repeats) son secuencias cortas de nucleótidos (2 - 6 bp), que se repiten en tándem y de forma aleatoria cuyas secuencias adyacentes permiten amplificarlas mediante una reacción en cadena de la polimerasa o PCR, con el uso de iniciadores. Debido a su excepcional variabilidad y relativa facilidad de análisis las secuencias microsátélites son consideradas los marcadores genéticos más poderosos

(Goldstein, 1997). Estos marcadores se encuentran generalmente en regiones no codificantes del genoma y distribuidos uniformemente (Goldstein y Schlotterer, 1999).

Los SSRs son abundantes y se encuentran altamente distribuidos a lo largo del genoma, son de carácter codominante y polimórfico (Xu et al., 2004). Además, los microsátélites producen mayor información que otros tipos de marcadores como AFLPs, RAPDs y RFLPs en términos de número de alelos por locus (Russell, 1997).

En los últimos años, el uso de microsátélites como marcador molecular en estudios de conservación de la biodiversidad ha aumentado considerablemente, debido a dos características principales: su elevada tasa de polimorfismo y la posibilidad de poder trabajar con reducidas cantidades de ADN. Los SSR Son particularmente útiles para resolver diversas cuestiones relacionadas con la conservación de la diversidad genómica, como la asignación de individuos a su población de origen y determinación de la estructura poblacional (González, 2003).

En Colombia se debe profundizar en el conocimiento de la estructura genética, la riqueza alélica y nucleotídica de las razas criollas e indígenas de maíz del país. Herrera et al. (2000) identificaron 11 caracteres morfológicos que recomiendan usar para la evaluación de la diversidad genética. Reif et al. (2006) emplearon 25 marcadores SSR para caracterizar 25 accesiones de 24 razas mexicanas, y reportaron un alto número de alelos y una alta variabilidad en el material evaluado.

Bravo (2009), empleando 10 marcadores SSR y cuatro características morfológicas, evaluó 24 accesiones endocriadas de maíz morado procedentes de Ecuador y el CIMMYT. No encontró correlación entre agrupaciones morfológicas y moleculares. Los marcadores SSR confirmaron que las accesiones analizadas fueron seleccionadas y auto fecundadas por su alto nivel de homocigocidad (0.82). Los SSR generaron un índice de disimilitud del 60% y la caracterización morfológica fue del 67%.

Sin embargo, la diversidad detectada por los SSR puede ser considerada más precisa porque no está influenciada por el ambiente e indica la diversidad al nivel del ADN a diferencia de la diversidad detectada mediante características morfológicas. Cardona (2010), empleando la estrategia Ward-MLM, revalidó los tres grupos raciales establecidos

por Roberts et al. (1957) pero con reubicaciones de las razas, en el que se incrementa el número de razas primitivas (de dos a cinco) y se reduce el número de razas híbridas colombianas (de doce a nueve).

Bedoya (2012) empleó 28 marcadores tipo SSR para evaluar germoplasma de maíz de Latinoamérica (131 razas de 23 países). Los resultados indicaron una fuente para el mejoramiento genético ya que logró identificar alelos raros y únicos en las accesiones nativas los cuales podrían ser alelos favorables para la agricultura. Bedoya et al. (2013) empleando marcadores SSR definieron tres grupos que coinciden con su distribución geográfica en México, y comprueban que las diferencias ambientales contribuyen en gran proporción al patrón general de la diversidad del maíz; también determinaron que existe una mayor diversidad genética interracial que intrarracial.

1.1.7 Diseño Metodológico

Para la evaluación de este estudio se emplearon 165 introducciones de razas criollas e indígenas de maíz de Colombia conservadas en el banco de ADN de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira (UNAL-Palmira), las cuales se dividen en dos colecciones de trabajo. La primera corresponde a 62 materiales procedentes del banco de germoplasma del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT; ANEXO 1), los cuales fueron colectadas en los años 1950. La segunda corresponde a 103 materiales muestreados entre 2007-2013 por GIRFIN-ICA (ANEXO 2).

El ADN fue extraído de material vegetal joven y libre de patógenos empleando el protocolo de Doyle & Doyle (1987), en el laboratorio de Biología Molecular de la UNAL-Palmira, por R.D. Rojas y D. Cañar, en el 2013. Se emplearon 10 marcadores (cebadores o “primers”) SSR, los cuales han sido reportados por su grado de polimorfismo para maíz (Tabla 3).

Tabla 1-3 Cebadores SSR empleados para determinar polimorfismo en razas criollas e indígenas de maíz.

Cebador	Secuencia	Rango bp
1 phi029	TTGTCTTTCTTCCTCCACAAGCAGCGAA ATTTCCAGTTGCCACCGACGAAGAACTT	140 – 150
2 phi057	CTCATCAGTGCCGTCGTCCAT CAGTCGCAAGAAACCGTTGCC	139 – 151
3 phi069	AGACACCGCCGTGGTCGTC AGTCCGGCTCCACCTCCTTC	187 – 201
4 Phi072	ACCGTGCATGATTAATTTCTCCAGCCTT GACAGCGCGCAAATGGATTGAACT	120 – 160
5 phi075	GGAGGAGCTCACCGGCGCATAA AAAGGTTACTGGACAAATATGCGTAACTCA	217 – 233
6 Phi083	CAAACATCAGCCAGAGACAAGGAC ATTCATCGACGCGTCACAGTCTACT	100 – 140
7 phi115	GCTCCGTGTTTCGCCTGAA ACCATCACCTGAATCCATCACA	291 – 311
8 phi127	ATATGCATTGCCTGGAAGGAAAGGA AATTCAAACACGCCTCCCGAGTGT	100 – 130
9 phi109188	AAGCTCAGAAGCCGGAGC GGTCATCAAGCTCTCTGATCG	148 – 174
10 umc1719	CCTGGAAGCACCCTGATACTAGC AGCTCCAGCCTGCCTACCAG	95 – 100

Las amplificaciones se realizaron adecuando el programa PCR para cada región. La PCR se realizó en un termociclador PTC 100 BIORAD empleando las condiciones descritas por CIMMYT (2006), modificadas para mejorar la visualización de cada región amplificada. Además se empleó BSA (albumina de suero bovino) como coadyuvante para aumentar la eficiencia de la PCR y disminuir la aparición de bandas inespecíficas (Tabla 4).

Tabla 1-4 Coctel empleado para la PCR para N=1.

Reactivo	[] inicial	[] final	Volumen
Buffer TAQ	10X	1X	1.25µl
dNTPs	1.25mM	0.2mM	2µl
Cebador (1-2)	10µm	0.1µM	0.5µl
MgCl₂	25mM	1.5mM	1.25µl
ADN	5 ng/µl	10 ng	1
Taq Polimerasa	5 U/µl	0.625 U	0.1µl
Agua desionizada			5.4 µl
Volumen total			12.5 µl

14 Caracterización de las razas criollas e indígenas de maíz colombiano por medio de marcadores moleculares SSR

En cuanto a las condiciones de hibridación, se emplearon dos programas de PCR para la amplificación de las regiones. Cada cebador o primer amplifica con una temperatura diferente en el ciclo de hibridación (alineamiento). En el caso del programa Zea1 se utilizó 1µl de ADN y en el programa de Zea2 se utilizaron 2µl (Tabla 5).

Tabla 1-5 Perfil térmico de amplificación para los SSR empleados en el estudio de las razas colombianas de maíz.

Programa Zea1					
Pasos	Ciclo	°C	Tiempo	* °C hibridación	Cebador
1	Desnaturalización inicial	94	2min	61	phi057
2	Desnaturalización	94	1min	55	phi069
3	Hibridación	*	1min	50	phi075
4	Extensión	72	2min	60	phi083
5	30 ciclos desde el paso 2			59	phi115
6	Extensión final	72	5min	60	phi127
7	Fin	14	8min	53	phi109188

Programa Zea2					
Pasos	Ciclo	°C	Tiempo	* °C hibridación	Cebador
1	Desnaturalización inicial	94	1min	57	phi029
2	Desnaturalización	94	30seg	57	Phi072
3	Hibridación	*	30seg	57	Umc1719
4	Extensión	72	1min		
5	35 ciclos desde el paso 2				
6	Extensión final	72	1min		
7	Fin	16	10min		

Los amplificadores (productos PCR) se visualizaron en geles de poliacrilamida al 7% (37:1 acrilamida-bisacrilamida) corridos en una cámara de electroforesis vertical a 160 voltios por una hora y teñidos con sales de plata como se describe en protocolos estándar (Sambrook et al. 1989). Las soluciones para el proceso de tinción se muestran en la Tabla 6.

Tabla 1-6. Soluciones para el proceso de tinción de los productos PCR.

Fijadora	Ácido acético	300 ml
	Agua	2700 ml
Tinción	Nitrato de plata	3 g
	Formaldehido 37%	3.86 ml
	Agua	3000 ml
Revelado	Carbonato de sodio	90 g
	Formaldehido 37%	3.86 ml
	(solución stock: 0.5 g + 50 ml de agua)	
	Tiosulfato de sodio	557 µl
Parada	Agua	3000 ml
	Ácido acético	300 ml
	Agua	2700 ml

En el procedimiento para la tinción del gel de poliacrilamida se siguieron las siguientes etapas: retirada del vidrio de la cámara de electroforesis; sumergir el vidrio, en el que se encuentra adherido el gel, en la solución fijadora durante 20 minutos (sin agitación); dos lavados con agua por 2 minutos cada uno (en agitación); luego se debe sumergir el vidrio en la solución de tinción durante 30 minutos en agitación constante (tapando la bandeja de agitación para evitar el ingreso de luz); un lavado de 10 segundos en agua (si se excede el tiempo se

deberá repetir todo el proceso de tinción); sumergir el vidrio en la solución de revelado bien fría (recién sacada de la nevera 4 – 10°C); agitación por 5 minutos en oscuridad, hasta la aparición de las bandas; sumergir el vidrio en la solución de parada por 5 minutos (sin agitación), y un nuevo lavado con agua por 3 minutos.

La lectura de los 10 cebadores seleccionados se hizo en los vidrios directamente, debido a que una fotografía no brinda la claridad y resolución adecuadas para su interpretación.

En la Figura 3 se muestra el amplificado de la región phi115

Figura 3 Marcador molecular tipo microsatélites SSR



Marcador molecular tipo microsatélites SSR, phi115 con un rango en bp de 291 a 311; amplificado y visualizado en poliacrilamida. El marcador de peso molecular es de 15 bp, observándose al inicio y al final de la corrida.

2. Identificación de los microsatélites de alto PIC para las poblaciones GIRFIN y CIMMYT incluidas en este estudio.

2.1 Introducción

Los microsatélites o Secuencias Simples Repetidas (SSR) son empleados para medir la diversidad genética gracias a su utilidad como marcadores moleculares con un alto grado de polimorfismo. A continuación se presentan los datos generados por cada región evaluada para las poblaciones GIRFIN y CIMMYT determinando la calidad e información de cada microsatélite. Las dos poblaciones se toman como una sola para determinar el número máximo de alelos (NA), número promedio de alelos (NPA), riqueza alélica (RA), contenido de información polimórfica (PIC), heterocigosidad observada y esperada (H_o - H_e) e índice de fijación (FIS).

2.2 Metodología

Para el análisis del polimorfismo genético presente en cada región evaluada, se emplearon los patrones de bandas obtenidos en la electroforesis de poliacrilamida, registrando estos datos en una matriz de Excel diferenciando entre homocigocis y heterocigocis. Para el análisis estadístico se empleó una matriz con valores binarios de presencia (1) ausencia (0) y una matriz en donde cada valor de presencia de banda está representado por el peso en pares de bases de cada banda, de cada región. Los programas empleados para el análisis de la información fueron Arlequin 3.11 y GenAlex 6.5, los cuales permiten evaluar la diversidad genética empleando análisis multivariados con parámetros poblacionales..

2.3 Resultados y Distribución

En la Tabla 2-1 se encuentran, para cada marcador molecular SSR evaluado, el número máximo de alelos (NA), número promedio de alelos (NPA), riqueza alélica (RA), contenido de información polimórfica (PIC), heterocigosidad observada y esperada (Ho-He) e índice de fijación (FIS).

NA promedio para los 10 marcadores fue de 4.7 ± 1.3 , en donde el mínimo número alélico encontrado fue tres y el máximo, siete alelos por locus.

La RA se refiere al número de alelos que se encuentran en una población (Kalinowski 2004) y es independiente del tamaño de la muestra. Además a mayor valor, mayor posibilidad de responder a presiones de selección, estableciendo un potencial evolutivo a través del tiempo (England et al., 2003). Para la evaluación de RA se emplearon 52 individuos al azar de las poblaciones GIRFIN y CIMMYT. La mayor RA las presentó los marcadores phi072 y phi075 con 6.945 y 5.891 respectivamente, mientras la menor RA phi115, con 2.984.

El PIC es un indicador que mide la calidad de la información de los marcadores moleculares tipo microsatélites analizados, considerando el número y frecuencia alélica; valores mayores a 0,5 se consideran muy informativos, valores entre 0.25 y 0.5 se entienden como medianamente informativos y valores menores a 0.25 son poco informativos (Botstein et al., 1980).

En este trabajo los valores de PIC se mostraron altamente informativos para phi057 con 0.54, phi072 con 0.75, phi075 con 0.58, pi083 con 0.56, phi109188 con 0.60 y umc1719 con 0.57; los medianamente informativos correspondieron a phi029 con 0.34, phi069 con 0.48, y phi027 con 0.44. El phi072 aportó el mayor contenido informativo, coincidiendo con el marcador con mayor riqueza alélica. A su vez, phi029 fue el marcador menos informativo.

La He se refiere a la probabilidad de que dos alelos tomados al azar de un grupo de genes de una población sean diferentes. La He promedio obtenida para los 10 marcadores moleculares evaluados fue del 0.567 ± 0.03 . La Ho representa el porcentaje de individuos heterocigotos presentes en una población. La Ho promedio obtenida para los 10 marcadores fue de 0.509 ± 0.03 . Los marcadores phi115, phi127 y phi109188 presentaron un exceso de heterocigotos ya que la Ho fue mayor a la He.

El FIS, también conocido como coeficiente de endogamia, relaciona individuos con una subpoblación; este parámetro mide el aumento de homocigosis por los apareamientos consanguíneos no aleatorios dentro de una población e indica la cercanía de la población al equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W). El FIS es igual a 0 cuando se presentan apareamientos al azar y la población se encuentra en equilibrio de H-W ($H_e = H_o$). Es igual a 1 cuando se presenta endogamia y los individuos de la población son homocigotos. Cuando el valor es negativo se tiende al exceso de heterocigotos (Wright, 1978; Hedrick, 2005). El FIS promedio obtenido para las 10 regiones evaluadas fue de 0.11 ± 0.06 , indicando una tendencia a la endogamia o aumento de homocigosis, lo cual se puede explicar por la selección. Sin embargo las regiones phi115, phi127 y phi109188 presentaron valores negativos, indicando un exceso de heterocigotos debido a la existencia de un factor que favorece la polinización cruzada o alogamia. A pesar del monoecismo, la barrera temporal de maduración de sus inflorescencias impide la autofecundación.

Tabla 2.1. Microsatélites analizados (marcador), con respectivos número máximo de alelos (NA), número promedio de alelos (NPA), riqueza alélica (RA), contenido de información polimórfica (PIC); heterocigosidad observada y esperada (H_o-H_e) e índice de fijación (FIS).

Tabla 2-1

Marcador	NA	NPA	RA	PIC	H_o	H_e	F_{IS}
phi029	3	3.0±0.0	3.000	0.34	0.155	0.383	0.596
phi057	5	4.5±0.7	4.556	0.54	0.459	0.561	0.182
phi069	5	4.5±0.7	4.916	0.48	0.463	0.534	0.132
phi072	7	5.0±0.0	6.945	0.75	0.594	0.738	0.195
phi075	6	5.0±1.4	5.891	0.58	0.618	0.627	0.014
phi083	5	5.0±0.0	4.906	0.56	0.546	0.613	0.109
phi115	3	3.0±0.0	2.984	0.38	0.483	0.444	-0.088
phi127	3	3.0±0.0	3.000	0.44	0.531	0.513	-0.036
phi109188	5	5.0±0.0	4.989	0.60	0.638	0.624	-0.022
umc1719	5	4.0±1.4	3.671	0.57	0.599	0.636	0.058
Promedio	4.7±1.3	4.2±1.0	-----	-----	0.509±0.03	0.567±0.03	0.11±0.06

2.4 Conclusiones

Según los resultados obtenidos en esta investigación, los microsatélites que brindan la mayor detección de polimorfismo y por lo tanto la mayor calidad informativa son phi057, phi072, phi075, pi083, phi109188 y umc1719, siendo phi072 y phi075 quienes presentan la mayor riqueza alélica y el mayor contenido de información polimórfica. Por lo tanto de los diez marcadores evaluados, estos seis marcadores moleculares SSR son los recomendados para ser incluidos en posteriores evaluaciones de diversidad genética para maíces criollos en Colombia.

Dadas las características de codominancia de los microsatélites se evaluó el coeficiente de endogamia determinando las tendencias poblacionales: las regiones evaluadas tienden al aumento de la homocigosis explicada por la selección, al evaluar cada región en particular se encontró que solo tres de ellas presentaban una tendencia al exceso de heterocigotos debido a un factor que favorece la polinización cruzada

3. Evaluación de la diversidad genética de muestras de maíces criollos e indígenas GIRFIN Y CIMMYT empleando marcadores SSR

3.1 Introducción

En Colombia existe una gran diversidad de razas criollas e indígenas de maíz las cuales ya han sido descritas por sus características morfológicas y en algunos estudios con marcadores moleculares se han evaluado materiales comerciales de maíz, pero hace falta profundizar sobre su variación genética empleando microsatélites SSR en estas razas. Esta Caracterización molecular busca conocer la estructura poblacional de las razas que fueron colectadas en el año de 1950 y comparar el grado de polimorfismo con las mismas razas colectadas entre el año 2008 a 2013 las cuales se encuentran conservadas en el banco de germoplasma del grupo de investigación GIRFIN de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira.

3.2 Metodología

Para la evaluación de la diversidad genética presente en las razas de maíces criollos e indígenas, se emplearon 10 microsatélites SSR los cuales han sido reportados por su alto grado de polimorfismo en maíz comercial, los resultados de patrones de bandas se plasmaron en matrices de Excel diferenciando entre homocigosis y heterocigosis. En el análisis estadístico se emplearon dos tipos de matriz una con datos binarios de presencia (1) ausencia (0) y otra en donde se identificaba el peso en pares de bases de cada locus por región evaluada. Los programas empleados para el análisis de la información fueron Arlequin 3.11; GenAlex 6.5; TFPGA (Tools for Population Genetic Analysis). Programas que emplean análisis multivariados con parámetros poblacionales.

3.3 Resultados y Distribución

3.3.1 Evaluación para las poblaciones GIRFIN y CIMMYT

En la evaluación de las 10 regiones moleculares empleadas se encontró un total de 47 alelos diferentes para las dos poblaciones. El número efectivo de alelos, el cual hace referencia a los alelos capaces de pasar a la siguiente generación (Kimura-Crow, 1964), para la gran población (GIRFIN -CIMMYT) es de 2.5 ± 0.2 (Tabla 3-1).

Tabla 3-1. Estadística descriptiva para los grupos CIMMYT y GIRFIN: número máximo de alelos (NA); número total de alelos (NTA); número promedio de alelos (NPA); número efectivo de alelos (N_e); tamaño de la muestra (N).

	GIRFIN	CIMMYT	TOTAL POBLACIÓN
NA	6	5	-----
NTA	44	40	47
NPA	4.4 ± 1.1	4.0 ± 0.9	4.7 ± 1.3
N_e	2.4 ± 0.2	2.6 ± 0.6	2.5 ± 0.2
N	103	52	155

Si se presenta un alto flujo genético las frecuencias alélicas deben ser similares en todas las poblaciones, pero si el flujo es bajo algunos alelos solo existirán en aquellas poblaciones en donde se originen por mutación, selección o deriva y este podrá fijarse generando frecuencias altas. Los alelos privados, también conocidos como alelos únicos, son exclusivos de una sola población con bajas o altas frecuencias. Este dato depende del número de individuos empleados para la evaluación (Slatkin, 1985). Un alelo se considera raro cuando su frecuencia es menor a 0.05 y se considera común cuando su frecuencia es mayor o igual a 0.05 (5%) (Marshall-Brown, 1975). En la evaluación de los 10 microsatélites en la población GIRFIN-ICA se encontró un total de 44 alelos de los cuales 37 fueron comunes para ambas poblaciones, siete fueron alelos privados y tres fueron considerados alelos raros. Dos de estos tres alelos raros pertenecen exclusivamente a *Tripsacum*, que junto a Negro peruano y *Tripsacum* fueron empleadas como testigo, su caracterización reveló que ambas accesiones comparten todos sus alelos con las poblaciones evaluadas a excepción de los dos alelos hallados en la región umc1719 pertenecientes únicamente a *Tripsacum*. En la población CIMMYT se hallaron 40 alelos de los cuales, 37 eran comunes para ambas poblaciones y tres correspondieron

a alelos privados con frecuencias menores al 5%. La pérdida de estos alelos en la nueva población se puede explicar por las fuerzas de selección ejercidas a través del tiempo.

En la Tabla 3-2 se describen los alelos privados y raros por población, con su respectivo peso molecular (bp).

Tabla 3-2. Alelos privados presentes en una población pero no en la otra; según la frecuencia alélica menor al 5% se subrayan los alelos raros.

Población	Locus	Alelo (bp)	Frecuencia
GIRFIN	Phi057	163	0.010
	Phi072	136	0.102
		150	0.335
	Phi075	220	0.083
		225	0.029
	Umc1719	95	0.005
CIMMYT	Phi069	110	0.005
		185	0.058
	Phi072	153	0.260
		156	0.067

La heterocigocidad se refiere a la proporción de los individuos heterocigotos, siendo un estimador de variabilidad genética ya sea en poblaciones naturales o domesticadas. En la Tabla 3-3 se muestra la heterocigocidad promedio para cada población. Los resultados de H_o y H_e para ambas poblaciones mostraron un déficit de heterocigotos debido a que H_o fue menor que H_e , lo que implica un desequilibrio de Hardy-Weinberg, resultado de la domesticación. Por otro lado en la población CIMMYT se empleó un menor número de individuos comparado con GIRFIN, pero fue la población que obtuvo la mayor diversidad genética esperada ($H_e = 0.6 \pm 0.1$).

La estructura genética de cada población es representada por la distribución alélica específica para cada grupo.

El F_{ST} mide la consanguinidad de las sub-poblaciones comparando con la población total, es decir, una medida de la variación de la frecuencia de los alelos entre poblaciones. La escala de valores y el grado de diferenciación del F_{ST} va desde “poca diferenciación genética (0.0-0.05), moderada diferenciación genética (0.06–0.15), alta diferenciación genética (0.16–0.25), hasta una gran diferenciación genética (con valores mayores a 0.25)” (Wright, 1978).

Para GIRFIN y CIMMYT en esta evaluación se encontró un valor de $F_{ST}=0.06^{**}$, representando un grado moderado de diferenciación genética de las dos poblaciones; es de resaltar que el resultado del F_{ST} fue altamente significativo ($P<0.001$), confirmando que en las poblaciones de maíz colombiano evaluadas, CIMMYT (colectada en los 50) y GIRFIN-ICA (colecta reciente) se presenta una moderada diferenciación genética, revelando la existencia de flujo genético a través del tiempo entre ambas poblaciones.

En el caso del índice de fijación, para ambas poblaciones se mostró que hay exceso de heterocigotos con un valor de $F_{IS}=0.09^{**}$, el cual concuerda con el resultado encontrado en los 10 marcadores moleculares expuestos anteriormente. La población que presenta mayor número de heterocigosis es GIRFIN con un $F_{IS}=0.04^{**}$.

Tabla 3-3 Estadística descriptiva para las poblaciones CIMMYT y GIRFIN: heterocigosidad observada y esperada (H_o - H_e) e índice de fijación de Wright (F_{IS}).

	H_o	H_e	F_{IS}
GIRFIN	0.519±0.15	0.544±0.16	0.04 ^{**}
CIMMYT	0.498±0.15	0.599±0.10	0.17 ^{**}
P(<0.001). $F_{IS}=0.09^{}$; $F_{ST}=0.06^{**}$; $F_{IT}=0.14^{**}$			

No significativo (NS); Altamente significativo (**); Medianamente significativo (*).

3.3.2 Evaluación por departamentos de las poblaciones GIRFIN y CIMMYT

Tabla 3-4. Estadística descriptiva para los departamentos de cada población evaluada (GIRFIN, CIMMYT): número máximo de alelos (NA); número total de alelos (NTA); número promedio de alelos (NPA); número efectivo de alelos (Ne); tamaño de la muestra (N).

Departamentos para GIRFIN		NA	NTA	NPA	Ne	N
1	Norte Santander	5	29	2.9±1.1	2.1±0.2	11
2	Putumayo	4	25	2.5±0.9	1.9±0.2	4
3	Santander	4	25	2.5±1.0	2.0±0.2	3
4	Boyacá	4	32	3.2±0.8	2.3±0.2	10
5	Tolima	5	35	3.5±1.0	2.5±0.2	9
6	Cundinamarca	4	32	3.2±1.0	2.2±0.4	11
7	Cauca	5	27	2.7±1.2	2.2±0.3	4
8	Valle	5	33	3.3±0.9	2.4±0.3	8
9	Guajira	3	21	2.1±0.7	1.7±0.2	3
10	Huila	4	25	2.5±1.1	1.9±0.2	5
11	Cesar	4	23	2.3±1.1	1.9±0.3	4
12	Magdalena	3	25	2.5±0.5	2.1±0.2	5
13	Atlántico	3	26	2.6±0.7	2.2±0.2	3
14	Nariño	3	22	2.2±0.4	1.8±0.1	3
15	Antioquia	4	24	2.4±0.7	2.0±0.2	6
16	Córdoba	4	31	3.1±1.0	1.7±0.2	9
17	Bolívar	3	20	2.0±0.5	1.8±0.1	2
P. TOTAL		--	41	2.7±0.9	2.0±0.1	100
Departamentos para CIMMYT		NA	NTA	NPA	Ne	N
1	Antioquia	4	28	2.8±0.8	2.2±0.2	4
2	Atlántico	5	31	3.1±1.1	2.5±0.3	5
3	Cauca	4	21	2.1±0.7	1.9±0.3	2
4	Chocó	4	25	2.5±1.0	2.0±0.3	4
5	Córdoba	4	25	2.5±0.7	2.1±0.2	5
6	Cundinamarca	5	33	3.3±1.2	2.7±0.4	6
7	Magdalena	5	31	3.1±1.0	2.5±0.3	6
8	Nariño	4	30	3.0±0.5	2.4±0.1	4
9	Norte Santander	4	30	3.0±0.8	2.2±0.2	7
10	Tolima	5	27	2.7±0.9	2.2±0.3	4
11	Valle	4	28	2.8±0.6	2.0±0.1	5
P. TOTAL		--	40	2.8±0.9	2.2±0.1	52

Los resultados de la heterocigocidad para cada población (GIRFIN y CIMMYT), por departamentos, se muestran en la Tabla 12. Para el caso de la población GIRFIN, nueve de los 17 departamentos mostraron un déficit de heterocigotos debido a que H_o fue menor que H_e . Estos departamentos fueron Putumayo, Santander, Boyacá, Guajira, Huila, Cesar, (coincidiendo con los nuevos departamentos evaluados recientemente y que no estaban en 1950, a excepción de Bolívar), Atlántico, Antioquia y Córdoba.

El valor más alto de H_o lo presentó Tolima con 0.71 ± 0.20 , coincidiendo con el departamento con mayor variabilidad alélica en cuanto al número total de alelos aportados. La menor H_o la presenta el departamento de Córdoba con un valor de 0.40 ± 0.16 . El índice de fijación promedio obtenido para los 17 departamentos evaluados fue de $F_{IS} = -0.03$ que al ser negativo manifiesta una tendencia al exceso de heterocigotos (Wright, 1978; Hedrick, 2005). El departamento con mayor exceso de heterocigotos fue Nariño, con un $F_{IS} = -0.40$.

Para la población CIMMYT, dos (Cauca y Chocó) de los 11 departamentos presentaron una H_o mayor que la H_e , indicando una alta presencia de individuos heterocigotos. La mayor H_o la presenta Cauca con 0.61 ± 0.31 y la menor el Valle del Cauca con 0.30 ± 0.19 . El índice de fijación promedio para los 11 departamentos evaluados fue de $F_{IS} = 0.14$ presentando un grado de endogamia que genera un mayor número de individuos homocigotos. El departamento con el valor más alto en el índice de fijación fue Valle del Cauca con un $F_{IS} = 0.45$.

Tabla 3-5. Estadística descriptiva para los departamentos de la población CIMMYT y GIRFIN: heterocigosidad observada y esperada (H_o - H_e); índice de fijación de Wright (F_{IS}).

	Departamentos para GIRFIN	H_o	H_e	F_{IS}
1	Norte Santander	0.54 ± 0.23	0.50 ± 0.18	-0.09
2	Putumayo	0.47 ± 0.26	0.52 ± 0.18	0.07
3	Santander	0.52 ± 0.29	0.59 ± 0.18	0.10
4	Boyacá	0.53 ± 0.28	0.54 ± 0.18	0.06
5	Tolima	0.71 ± 0.20	0.61 ± 0.13	-0.20
6	Cundinamarca	0.53 ± 0.23	0.49 ± 0.22	-0.11
7	Cauca	0.61 ± 0.31	0.58 ± 0.21	-0.05
8	Valle	0.58 ± 0.27	0.55 ± 0.22	-0.06
9	Guajira	0.46 ± 0.17	0.49 ± 0.18	0.03
10	Huila	0.55 ± 0.18	0.56 ± 0.12	-0.01
11	Cesar	0.57 ± 0.35	0.61 ± 0.14	0.01
12	Magdalena	0.56 ± 0.34	0.53 ± 0.18	-0.09
13	Atlántico	0.63 ± 0.31	0.67 ± 0.09	-0.01
14	Nariño	0.67 ± 0.31	0.50 ± 0.15	-0.40
15	Antioquia	0.47 ± 0.29	0.50 ± 0.20	0.02
16	Córdoba	0.40 ± 0.16	0.44 ± 0.15	0.12
17	Bolívar	0.61 ± 0.33	0.59 ± 0.12	-0.15

P(<0.001). F_{IS}=-0.03 NS; F_{ST}=0.07; F_{IT}=0.04*				
Departamentos para CIMMYT		H_o	H_e	F_{IS}
1	Antioquia	0.53±0.19	0.56±0.21	0.04
2	Atlántico	0.52±0.22	0.61±0.16	0.10
3	Cauca	0.67±0.35	0.63±0.16	-0.22
4	Chocó	0.53±0.26	0.50±0.24	-0.08
5	Córdoba	0.52±0.22	0.55±0.12	0.07
6	Cundinamarca	0.52±0.21	0.66±0.16	0.23
7	Magdalena	0.58±0.26	0.61±0.13	0.01
8	Nariño	0.55±0.26	0.65±0.09	0.10
9	Norte Santander	0.49±0.22	0.55±0.15	0.06
10	Tolima	0.53±0.40	0.56±0.20	0.10
11	Valle	0.30±0.19	0.52±0.15	0.45
P (<0.001). FIS=0.14; FST=0.04 NS; FIT=0.17**				

Para la estimación de las distancias genéticas para la población de GIRFIN y CIMMYT por departamentos se empleó el índice de Nei (1972), por medio del programa TFGA (Miller, 1997). En la Tabla 13 se presentan las distancias genéticas halladas para la población GIRFIN. La mayor distancia la presentaron Putumayo y Bolívar con 0.427, seguido por Putumayo y Cauca con 0.363, lo que se puede dar por las distancias geográficas. Los departamentos con menor distancia genética fueron Boyacá y Tolima con 0.057, seguidos de Boyacá y Magdalena.

En la Tabla 14 se exponen las distancias genéticas encontradas en la población CIMMYT para sus 11 departamentos. La mayor distancia encontrada se presentó en Cauca y Chocó con 0.503, seguidos de Cauca y Cundinamarca con 0.389. Las distancias más bajas la presentaron Antioquia y Valle con 0.077, seguidos de Chocó y Cundinamarca con 0.113.

4. Distancias genéticas generadas mediante el índice de Nei 1972, para los 17 departamentos evaluados en la población GIRFIN

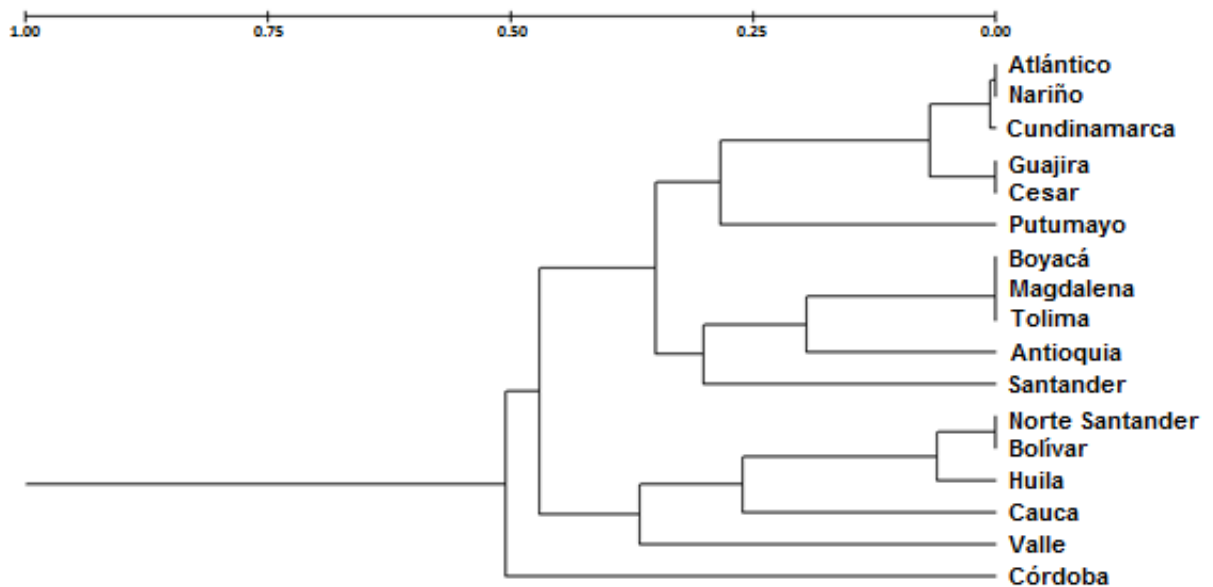
Tabla 4-1. Distancias genéticas generadas mediante el índice de Nei 1972, para los 17 departamentos evaluados en la población GIRFIN.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	****																
2	0.203	****															
3	0.148	0.211	****														
4	0.064	0.160	0.146	****													
5	0.122	0.140	0.150	0.057	****												
6	0.103	0.125	0.160	0.069	0.064	****											
7	0.165	0.363	0.284	0.226	0.151	0.182	****										
8	0.123	0.314	0.325	0.162	0.213	0.228	0.248	****									
9	0.180	0.176	0.212	0.126	0.129	0.076	0.217	0.235	****								
10	0.081	0.244	0.220	0.143	0.189	0.153	0.161	0.128	0.175	****							

Para la formación de los dendrogramas se utilizó la información generada por las 10 regiones moleculares evaluadas, organizando los datos por departamentos para cada población. En la Figura 4 se muestra el dendrograma de distancia genética de Nei (1978), generado para la población GIRFIN, en el cual se evidenció una diferencia genética aproximada del 52% entre todos los departamentos evaluados. Al trazarle una línea imaginaria a una altura del 48% se observó la formación de tres grandes grupos, por su cercanía genética.

El primer grupo fue conformado por Atlántico, Nariño, Cundinamarca, La Guajira, Cesar, Putumayo, Boyacá, Magdalena, Tolima, Antioquia y Santander, con una diferencia genética del 35% entre departamentos, siendo Santander el más alejado de todos con una diferencia del 30%. El segundo grupo lo conformó Norte de Santander, Bolívar, Huila, Cauca y Valle del Cauca con una diferencia genética del 38%, siendo Valle el más alejado, con una diferencia del 38%. El tercer grupo lo conformó únicamente el departamento de Córdoba, el cual se aleja de la toda la población con una distancia genética del 52%.

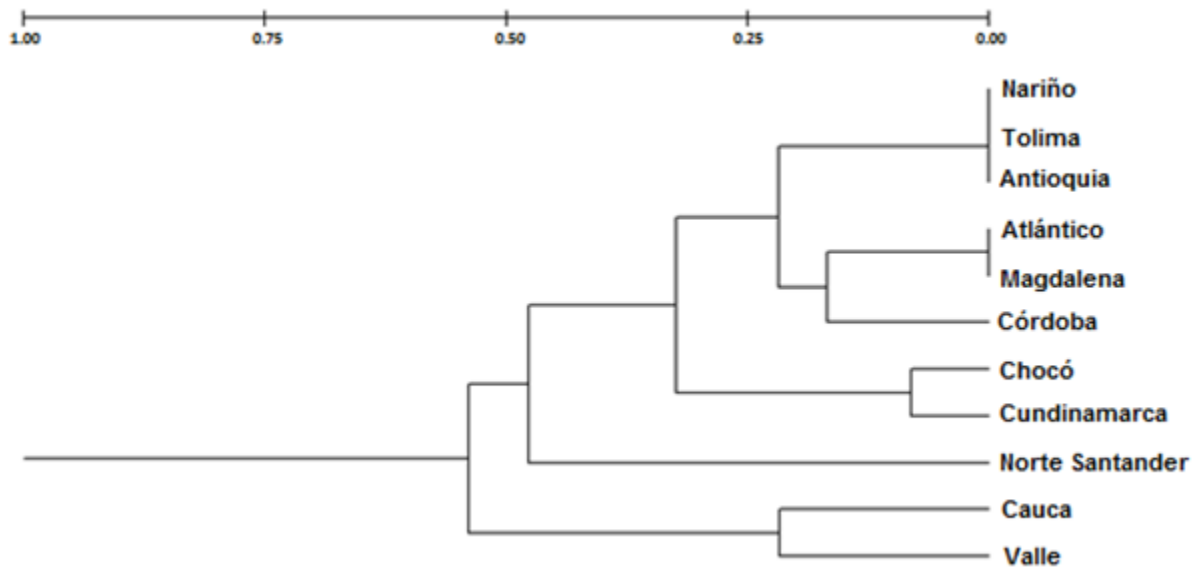
Figura 4. Dendrograma de la población GIRFIN; empleando la distancia mínima no sesgada de Nei (1978).



Dendrograma de la población GIRFIN con 17 departamentos, construido con UPGMA; Los resultados fueron generados con un bootstrap de 1000 permutaciones usando el programa TFPGA.

La Figura 5 muestra el dendrograma generado para la población CIMMYT y las distancias genéticas obtenidas para sus 11 departamentos. La población total presentó una diferencia aproximada del 55% entre los departamentos evaluados. Al trazar una línea imaginaria a una altura del 40% se observó la formación de tres grandes grupos por su cercanía genética. El primer grupo fue conformado por Nariño, Tolima, Antioquia, Atlántico, Magdalena, Córdoba, Chocó y Cundinamarca, con una diferencia genética del 35% entre departamentos, siendo Chocó y Cundinamarca los departamentos más distanciados genéticamente con el 35%. El segundo grupo lo conformó únicamente Norte de Santander con una diferencia genética del 48%. El tercer y último grupo fue conformado por Valle del Cauca y Cauca, con una diferencia genética aproximada del 22%.

Figura 5. Dendrograma de la población CIMMYT; empleando la distancia mínima no sesgada de Nei (1978).



Dendrograma de la población CIMMYT con 11 departamentos; empleando Cluster de UPGMA; los resultados fueron generados con un bootstrap de 1000 permutaciones usando el programa TFPGA.

Al comparar las dos poblaciones (CIMMYT, colecta de los 50; GIRFIN, colecta reciente) se observa que la primera agrupación se mantiene bien definida, incluyendo los mismos departamentos con la excepción de Córdoba, que pasó de hacer parte del grupo 1 en los 50 a formar una gran diferencia con el total de la población reciente, generando un único grupo. En el segundo grupo solo aparece Norte de Santander, coincidiendo en ambas poblaciones; Cauca y Valle del Cauca, que conformaban el segundo grupo en el dendrograma de GIRFIN, pasó a formar el tercer grupo en la colecta de 50, sin presencia de datos en el departamento de Córdoba para este último grupo.

4.1.1 Evaluación por razas de las poblaciones CIMMYT y GIRFIN

En la población GIRFIN se evaluaron siete razas empleando 85 individuos, encontrando un aporte de 41 alelos diferentes de los 44 presentados en la evaluación por población, debido a que se excluyeron algunas razas representadas por un solo individuo, Cacao, Capiro y Yucatán. Además se excluyeron 12 accesiones debido a que no han sido debidamente identificadas. El número máximo de alelos presentes fue de cinco y mínimo de tres para las razas representadas en la colecta reciente. Las razas que presentaron la mayor variabilidad alélica fueron Común con un aporte total de 38 alelos y Sabanero con 36, seguidos de Costeño y Montaña con un total de 34 alelos cada uno. La raza con menor aporte fue Cariaco con 21 alelos diferentes. El número promedio de alelos por raza fue de 3.2 ± 1.0 , con un número efectivo de 2.3 ± 0.1 .

En la población CIMMYT se evaluaron 18 razas empleando 55 accesiones, generando un aporte total de 40 alelos. El máximo número alélico fue de cinco y el mínimo de dos alelos presentes por razas. La mayor variabilidad alélica se presentó en las razas Chococéño, Común y Costeño, con un total de 30 alelos diferentes cada una, revelando un aumento alélico en los últimos 58 años. Esto fue de ocho alelos en la raza Común y cuatro en Costeño.

La raza Amagaceño presentó un total de 28 alelos diferentes. Puya fue la raza con menor número alélico, con dos alelos, sin embargo presentó un aumento en tres alelos para las colectas recientes. Igualmente, Puya presentó el menor número total alélico, con 17 alelos diferentes. El número promedio de alelos por raza fue de 2.4 ± 0.8 , con un número efectivo de alelos de 2.0 ± 0.1 .

En las poblaciones GIRFIN y CIMMYT se puede resaltar que a través del tiempo se han ganado alelos las siete razas evaluadas de la colecta reciente comparando con la colecta de los 50, a excepción de la raza Cariaco, en la cual se observa una reducción alélica en todos los datos estadísticos. Por otro lado en la raza Costeño no se presentó ninguna variación en el número máximo de alelos (NA), pero sí hubo una pequeña disminución en el número efectivo de alelos. En la Tabla 15 se presenta la descripción estadística para las diferentes razas de GIRFIN y CIMMYT.

Tabla 4-3. Estadística descriptiva para las razas de cada población CIMMYT y GIRFIN.

RAZAS GIRFIN		NA	NTA	NPA	Ne	N
1	Cariaco	3	21	2.1±0.9	1.9±0.2	2
2	Clavo	4	28	2.8±0.9	2.3±0.3	3
3	Común	5	38	3.8±1.1	2.8±0.3	14
4	Costeño	5	34	3.4±0.8	2.0±0.2	19
5	Montaño	5	34	3.4±1.0	2.2±0.2	16
6	Puya	5	32	3.2±1.0	2.1±0.2	16
7	Sabanero	5	36	3.6±1.1	2.5±0.3	15
P. TOTAL		--	41	3.2±1.0	2.3±0.1	85
RAZAS CIMMYT		NA	NTA	NPA	Ne	N
1	Andaquí	3	20	2.0±0.8	1.8±0.2	2
2	Amagaceño	4	28	2.8±0.8	2.3±0.2	3
3	Cariaco	4	25	2.5±0.7	2.1±0.2	4
4	Chocoseño	4	30	3.0±0.7	2.2±0.2	6
5	Clavo	3	25	2.5±0.7	2.2±0.2	2
6	Común	4	30	3.0±0.7	2.1±0.1	6
7	Costeño	5	30	3.0±1.2	2.3±0.3	6
8	Güirua	3	20	2.0±0.8	1.8±0.2	2
9	Harinoso dentado	4	25	2.5±1.0	2.3±0.3	2
10	Montaño	3	24	2.4±0.7	1.9±0.2	3
11	Negrilo	3	20	2.0±0.8	1.8±0.2	2
12	Pira Naranja	3	23	2.3±0.5	2.0±0.2	2
13	Pira	4	24	2.4±0.8	2.2±0.3	2
14	Pollo	3	21	2.1±0.6	1.9±0.2	2
15	Puya grande	4	26	2.6±0.7	2.0±0.2	5
16	Puya	2	17	1.7±0.5	1.7±0.2	2
17	Sabanero	3	21	2.1±0.7	1.8±0.2	2
18	Yucatán	4	21	2.1±1.0	1.9±0.3	2
P. TOTAL		--	40	2.4±0.8	2.0±0.1	55

Número máximo de alelos (NA); número total de alelos (NTA); número promedio de alelos (NPA); número efectivo de alelos (Ne); tamaño de la muestra (N).

En la Tabla 4-4 se presentan los datos generados en la evaluación de heterocigosidad para las diferentes razas presentes en las poblaciones de GIRFIN y CIMMYT. De las siete razas presentes en la población GIRFIN, cuatro de ellas mostraron un déficit de heterocigotos debido a que H_o fue menor que H_e , indicando un desequilibrio de Hardy-

Weinberg. Estas fueron Cariaco, Costeño, Montaña y Puya. A su vez, la raza Clavo presentó un exceso de heterocigotos debido a que la H_o fue mayor que la H_e .

Por último las razas Común y Sabanero presentaron una tendencia al equilibrio de Hardy-Weinberg, ya que la H_o fue igual a la H_e . El valor más alto de H_o lo presentó la raza Cariaco con 0.71 ± 0.27 y el menor H_o fue presentado por Costeño con 0.45 ± 0.17 . El índice de fijación promedio obtenido para las siete razas evaluadas fue de $F_{IS} = -0.03$, que al ser negativo presenta una tendencia al exceso de heterocigotos (Wright, 1978; Hedrick, 2005).

En la población CIMMYT se evaluaron 18 razas de las cuales 13 de ellas presentaron un déficit de heterocigotos y cinco presentaron un exceso de heterocigotos (Güirua, Harinoso Dentado, Montaña, Puya y Yucatán). Las mayores H_o la presentó Puya con 1.00 ± 0.00 , seguida de Harinoso Dentado con 0.81 ± 0.26 y Yucatán con 0.79 ± 0.27 . La menor H_o la presenta la raza Pollo con 0.33 ± 0.25 y Común con 0.35 ± 0.18 .

Tabla 4-4. Estadística descriptiva para las razas de las poblaciones CIMMYT y GIRFIN.

	RAZAS GIRFIN	H_o	H_e	F_{IS}
1	Cariaco	0.71 ± 0.27	0.74 ± 0.13	-0.12
2	Clavo	0.70 ± 0.33	0.61 ± 0.21	-0.18
3	Común	0.60 ± 0.23	0.60 ± 0.22	-0.02
4	Costeño	0.45 ± 0.17	0.48 ± 0.17	0.05
5	Montaña	0.49 ± 0.17	0.54 ± 0.13	0.07
6	Puya	0.48 ± 0.22	0.49 ± 0.18	-0.01
7	Sabanero	0.55 ± 0.24	0.55 ± 0.19	0.002
**P (<0.001). $F_{IS} = -0.03$; $F_{ST} = 0.02$; $F_{IT} = 0.05$*				
	RAZAS CIMMYT	H_o	H_e	F_{IS}
1	Andaquí	0.57 ± 0.35	0.67 ± 0.17	0.12
2	Amagaceño	0.57 ± 0.32	0.62 ± 0.21	0.07
3	Cariaco	0.53 ± 0.28	0.55 ± 0.18	0.04
4	Chocoseño	0.48 ± 0.20	0.57 ± 0.14	0.13
5	Clavo	0.72 ± 0.36	0.74 ± 0.15	-0.02
6	Común	0.35 ± 0.18	0.54 ± 0.12	0.37
7	Costeño	0.52 ± 0.25	0.56 ± 0.17	0.01
8	Güirua	0.71 ± 0.27	0.67 ± 0.17	-0.17
9	Harinoso dentado	0.81 ± 0.26	0.79 ± 0.15	-0.13
10	Montaña	0.59 ± 0.15	0.57 ± 0.17	-0.08
11	Negríto	0.64 ± 0.38	0.67 ± 0.17	1.00

12	Pira Naranja	0.55±0.28	0.65±0.15	0.05
13	Pira	0.39±0.33	0.72±0.17	0.50
14	Pollo	0.33±0.25	0.63±0.14	0.44
15	Puya grande	0.46±0.23	0.51±0.17	0.05
16	Puya	1.00±0.00	0.67±0.00	-1.00
17	Sabanero	0.63±0.23	0.65±0.17	-0.04
18	Yucatán	0.79±0.27	0.69±0.20	-0.24

****P (<0.001). F_{IS}=-0.13**; F_{ST}=0.06; F_{IT}=0.18****

heterocigosidad observada y esperada (Ho-He); índice de fijación de Wright (FIS).

El índice de fijación promedio para las 18 razas fue de FIS=-0.13, lo que representa una tendencia al exceso de heterocigotos. La raza con el valor más alto en el índice de fijación fue Negrito, con un FIS=1.00, indicando que los individuos son homocigotos. La de menor valor fue Puya, con un FIS=-1.00, también indicando un exceso de heterocigosis. La raza con mayor tendencia al equilibrio de Hardy-Weinberg fue Costeño, con un FIS=0.01.

Estimando las distancias genéticas para las poblaciones GIRFIN y CIMMYT por razas se utilizó el índice de Nei (1972), empleando el programa TFGA (Miller, 1997). La Tabla 17 muestra las distancias genéticas generadas para la población GIRFIN. La mayor distancia la presentaron Cariaco y Clavo con 0.356, seguidas por Cariaco y Común con 0.215. Las razas con menor distancia genética fueron Puya y Sabanero con 0.035, seguida de las razas Costeño y Puya con 0.036. En la Tabla 18 se presentan las distancias genéticas generadas para las 18 razas la población CIMMYT. La mayor distancia la presentaron Andaquí y Puya con 0.732, seguidas por Cariaco y Pollo con 0.667. Las distancias más bajas la presentaron Chococeño y Costeño con 0.098, seguidas de Chococeño y Negrito con 0.137.

Tabla 4-5. Distancias genéticas generadas mediante el índice de Nei (1972), para las siete razas evaluadas en la población GIRFIN.

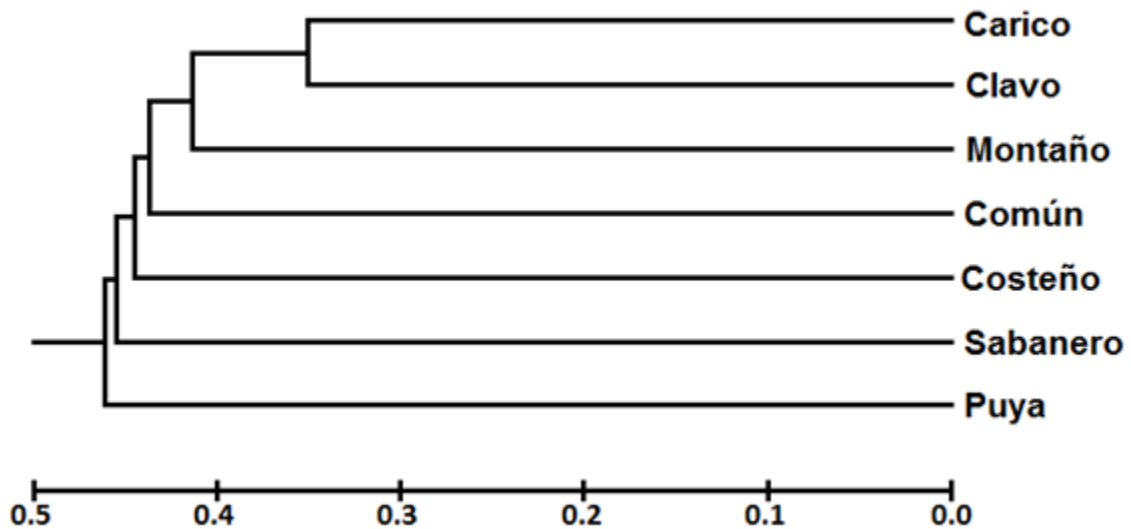
	1	2	3	4	5	6	7
1	****						
2	0.356	****					
3	0.215	0.098	****				
4	0.199	0.107	0.080	****			
5	0.248	0.134	0.096	0.083	****		
6	0.210	0.087	0.071	0.036	0.055	****	
7	0.201	0.123	0.063	0.055	0.042	0.035	****

Tabla 4-6. Distancias genéticas generadas mediante el índice de Nei (1972), para las 18 razas evaluadas en la población CIMMYT.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	****																	
2	0.436	****																
3	0.483	0.338	****															
4	0.269	0.258	0.194	****														
5	0.183	0.352	0.433	0.230	****													
6	0.328	0.240	0.403	0.225	0.292	****												
7	0.437	0.179	0.237	0.098	0.229	0.260	****											
8	0.410	0.471	0.408	0.329	0.309	0.504	0.355	****										
9	0.234	0.376	0.557	0.315	0.248	0.327	0.402	0.261	****									
10	0.371	0.220	0.405	0.207	0.164	0.273	0.191	0.475	0.347	****								
11	0.470	0.424	0.384	0.137	0.309	0.197	0.222	0.440	0.460	0.199	****							
12	0.336	0.306	0.390	0.211	0.251	0.175	0.274	0.465	0.341	0.185	0.263	****						
13	0.382	0.219	0.289	0.180	0.443	0.299	0.296	0.500	0.292	0.335	0.306	0.296	****					
14	0.456	0.330	0.667	0.366	0.358	0.329	0.382	0.540	0.416	0.361	0.349	0.230	0.370	****				
15	0.288	0.366	0.198	0.183	0.191	0.288	0.157	0.223	0.407	0.344	0.299	0.388	0.461	0.489	****			
16	0.732	0.277	0.509	0.356	0.601	0.417	0.304	0.655	0.512	0.555	0.517	0.614	0.398	0.523	0.543	****		
17	0.258	0.154	0.315	0.244	0.294	0.279	0.206	0.395	0.303	0.331	0.520	0.322	0.353	0.395	0.231	0.338	****	
18	0.492	0.317	0.500	0.171	0.227	0.370	0.176	0.401	0.385	0.140	0.180	0.225	0.311	0.230	0.342	0.415	0.431	***

Para la formación de los dendrogramas por razas se utilizó la información generada por las 10 regiones moleculares microsátelites evaluadas para cada población, GIRFIN y CIMMYT. En la Figura 6 se observa el dendrograma generado para la población GIRFIN mostrando una máxima diferencia genética aproximada del 46% entre las razas evaluadas. Puya fue la raza más distante de toda la población. Cariaco y Clavo son las razas que presentaron mayor similitud y la menor distancia presente dentro de la población, con 34%.

Figura 6. Dendrograma de la población GIRFIN; empleando la distancia mínima no sesgada de Nei (1972).

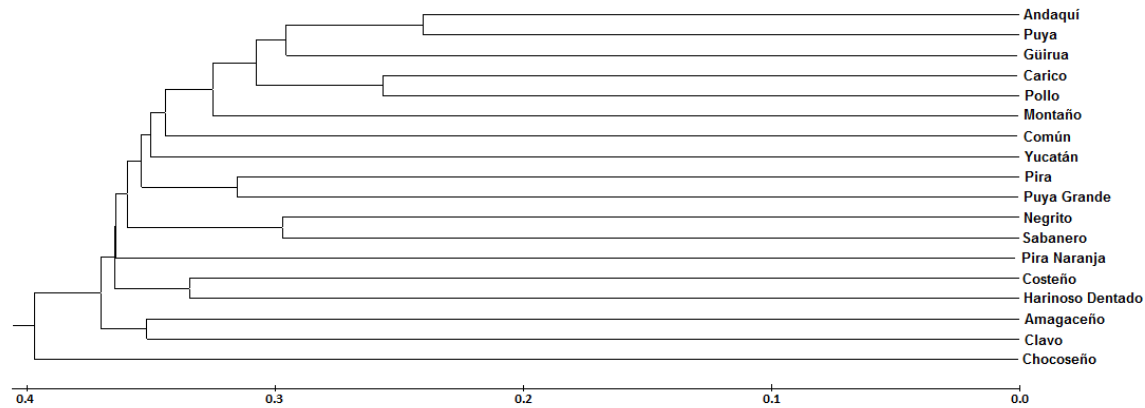


Dendrograma de la población GIRFIN con 7 razas; construido con "Cluster" o agrupamiento de UPGMA. Los resultados fueron generados con un bootstrap de 1000 permutaciones usando el programa TFPGA.

En la Figura 7 se presenta el dendrograma generado para la población CIMMYT mostrando las distancias genéticas obtenidas para sus 18 razas. La raza con mayor distancia genética y por lo tanto la más distante de la población es Chococeño con una diferencia del 39%, seguida de Amagaceño y Clavo, que presentaron una similitud y se diferenciaron de la población en un 34%. Las razas Andaquí y Puya son similares y se diferenciaron de la población en un 23%, siendo la menor diferencia genética presente en

la población CIMMYT. Le siguen Cariaco y Pollo, las cuales presentaron una similitud y se diferenciaron de la población en un 25%.

Figura 7. Dendrograma de la población CIMMYT; empleando la distancia mínima no sesgada de Nei (1972).



Dendrograma de la población CIMMYT con 18 razas; construido con UPGMA. Los resultados fueron generados con un bootstrap de 1000 permutaciones usando el programa TFPGA.

Al comparar las siete razas evaluadas en GIRFIN con las mismas en la población CIMMYT se observó que en todos los casos ha aumentado la diferenciación genética a través del tiempo (alrededor de 60 años), a excepción de la raza Clavo, que permaneció con aproximadamente un 34% de diferencia en ambas poblaciones. La raza más distante genéticamente siguió siendo Puya, con un 46% en la población GIRFIN y con un 39% en la población CIMMYT, mientras la de menor diferenciación genética siguió siendo Cariaco con un 34% en GIRFIN y 26% en CIMMYT. La raza que ganó mayor diferenciación fue Sabanero, aumentando en un 15% su diferencia de la población CIMMYT a GIRFIN, seguida de Costeño, con un incremento del 11% en su diferenciación poblacional.

5. Conclusiones y Discusión

Los 10 microsatélites SSR empleados para la caracterización genética de las razas criollas e indígenas de maíz detectaron un total de 47 alelos diferentes para las dos poblaciones evaluadas. De estos, 37 alelos son comunes para las poblaciones GIRFIN y CIMMYT, tres son privados para CIMMYT y siete son privados para GIRFIN. Tres son considerados alelos raros, por su frecuencia alélica menor al 5%, siendo dos exclusivos de *Tripsacum* y uno de GIRFIN.

Es de resaltar que la distribución geográfica de las razas criollas e indígenas de maíz en Colombia a través del tiempo ha aumentado de 11 a 17 departamentos, principalmente por la ampliación de la infraestructura vial que se presentó en la segunda mitad del siglo XX. Con esto se masificó el uso de vehículos de transporte terrestre, facilitando el desplazamiento de la población de un territorio a otro, permitiendo ampliar el intercambio y uso de productos especialmente agrícolas. Además el constante aumento de la población incrementó la demanda de alimento y la necesidad de garantizar la seguridad alimentaria.

Al ampliar esta distribución geográfica, se presenta paralelamente un aumento de la diversidad alélica en los departamentos de Cauca, Córdoba, Tolima y Valle del Cauca. Esta ganancia alélica se da por el incremento en el número de razas por departamento y el ingreso de nuevas poblaciones de las razas ya existentes. Asimismo las adaptaciones en la planta por la influencia biótica, como es el caso del ataque de insectos y hongos que puedan generar resistencias, o la influencia abiótica como disponibilidad de agua, condiciones ambientales y/o las características ecotípicas de cada región.

En los departamentos de Antioquia, Atlántico, Cundinamarca, Magdalena, Nariño y Norte de Santander, se presentó una reducción de la diversidad alélica, posiblemente por la selección realizada a través del tiempo por parte de pequeños agricultores y especialmente por grupos étnicos del país, en busca de mejores características agronómicas y adaptativas.

La máxima distancia genética estimada para las razas de la población GIRFIN fue del 46%. Para la población CIMMYT fue del 39, siendo Puya la raza que presentó la máxima diferencia genética dentro de las dos poblaciones. La raza con la menor diferenciación genética en ambas poblaciones fue Cariaco, con 34% en GIRFIN y un 26% en CIMMYT. Esto manifiesta que a través del tiempo la dinámica poblacional en todos los casos aumentó la diferenciación genética, a excepción de la raza Costeño, la cual no presentó variación en el contenido alélico. En la raza Cariaco se observó una reducción en el número alélico y por lo tanto de la diversidad genética de la población, posiblemente por causa de la deriva genética, en donde se pierden los alelos menos comunes de una manera aleatoria y se fijan aquellos con las mayores frecuencias.

5.1 Discusión y Conclusiones Generales

Del total de los 47 alelos encontrados, 37 son comunes para las dos poblaciones evaluadas (años 50 y colecta 2008), indicando que los mismos se han mantenido a través del tiempo. Tres son privados para la población CIMMYT, implicando una pérdida alélica generada posiblemente por fuerzas de selección ya sea por parte de agricultores y grupos étnicos por sus usos (rituales, alimenticios), características agronómicas (productividad, tiempo de cosecha, resistencias) y organolépticas (textura, sabor, color). O de manera natural, por la deriva genética, en donde se pierden de manera aleatoria aquellos alelos con frecuencias bajas. Siete alelos son privados para la población GIRFIN, manifestando una ganancia alélica en la nueva población, posiblemente generados por mutaciones y/o por flujo genético entre poblaciones. Además un alelo se consideró raro para esta población.

Los testigos Negro del Perú y Tripsacum, pertenecientes a la población GIRFIN, comparten todos sus alelos con ambas poblaciones (1950-2008), a excepción de dos alelos, los cuales fueron hallados en la región umc1719 y están presentes exclusivamente en Tripsacum.

Según los datos generados en esta investigación, el departamento de Tolima presenta la mayor riqueza alélica, indicando que en este territorio se pueden desarrollar futuros

proyectos de investigación encaminados en la formulación de estrategias de conservación, valoración y uso del patrimonio genético representado por el germoplasma de maíces criollos e indígenas de Colombia. Además hace falta profundizar en el conocimiento de la productividad de estas razas y su uso en procesos de mejoramiento.

A. Anexo: Pasaporte de accesiones repatriadas de CIMMYT (1950).

Pasaporte Razas Criollas e Indígenas de Colombia - CIMMYT				
No.	Origen	Raza	Departamento	Accesión
115	CIMMYT	POLLO	CUNDINAMARCA	ZmCIM_POLL_CUN_3106
116	CIMMYT	PIRA	CUNDINAMARCA	ZmCIM_PIRA_CUN_3108
114	CIMMYT	POLLO	CUNDINAMARCA	ZmCIM_POLL_CUN_3105
118	CIMMYT	PIRA NARANJA	NARIÑO	ZmCIM_PiRNA_NAR_3113
117	CIMMYT	PIRA NARANJA	NARIÑO	ZmCIM_PiRNA_NAR_3112
119	CIMMYT	CLAVO	NORTE DE SANTANDER	ZmCIM_CLAV_NdS_3118
120	CIMMYT	GÜIRUA	MAGDALENA	ZmCIM_GÜIR_MAG_3121
121	CIMMYT	GÜIRUA	MAGDALENA	ZmCIM_GÜIR_MAG_3125
122	CIMMYT	MAÍZ DULCE	NARIÑO	ZmCIM_MaDUL_NAR_3127
123	CIMMYT	CARIACO	CÓRDOBA	ZmCIM_CARI_COR_3129
124	CIMMYT	CARIACO	CÓRDOBA	ZmCIM_CARI_COR_3130
125	CIMMYT	CARIACO	CÓRDOBA	ZmCIM_CARI_COR_3131
126	CIMMYT	CARIACO	MAGDALENA	ZmCIM_CARI_MAG_3132
127	CIMMYT	IMBRICADO	CUNDINAMARCA	ZmCIM_IMBR_CUN_3140
128	CIMMYT	SABANERO	BOYACA	ZmCIM_SABA_BOY_3149
129	CIMMYT	CABUYA	NORTE DE SANTANDER	ZmCIM_CABU_NdS_3153
130	CIMMYT	MONTAÑO	ANTIOQUIA	ZmCIM_MONT_ANT_3155
131	CIMMYT	MONTAÑO	ANTIOQUIA	ZmCIM_MONT_ANT_3156
132	CIMMYT	MONTAÑO	ANTIOQUIA	ZmCIM_MONT_ANT_3157
133	CIMMYT	AMAGACEÑO	CAUCA	ZmCIM_AMAG_CAU_3164
134	CIMMYT	AMAGACEÑO	ANTIOQUIA	ZmCIM_AMAG_ANT_3165
135	CIMMYT	AMAGACEÑO	NARIÑO	ZmCIM_AMAG_NAR_3166
136	CIMMYT	COMÚN	VALLE	ZmCIM_COMU_VAL_3168
137	CIMMYT	COMÚN	VALLE	ZmCIM_COMU_VAL_3169
139	CIMMYT	COMÚN	VALLE	ZmCIM_COMU_VAL_3171
141	CIMMYT	COMÚN	VALLE	ZmCIM_COMU_VAL_3173
142	CIMMYT	COMÚN	CAUCA	ZmCIM_COMU_CAU_3175
143	CIMMYT	COMÚN	QUINDIO	ZmCIM_COMU QUI_3176
144	CIMMYT	COMÚN	VALLE	ZmCIM_COMU_VAL_3177
145	CIMMYT	CACAO	SANTANDER	ZmCIM_CACA_SAN_3185
146	CIMMYT	SABANERO	NORTE DE SANTANDER	ZmCIM_SABA_NdS_3187

147	CIMMYT	COSTEÑO	CÓRDOBA	ZmCIM_COST_COR_3190
148	CIMMYT	COSTEÑO	ATLÁNTICO	ZmCIM_COST_ATL_3191
149	CIMMYT	COSTEÑO	ATLÁNTICO	ZmCIM_COST_ATL_3192
150	CIMMYT	COSTEÑO	ATLÁNTICO	ZmCIM_COST_ATL_3193
151	CIMMYT	COSTEÑO	ATLÁNTICO	ZmCIM_COST_ATL_3194
152	CIMMYT	COSTEÑO	BOLÍVAR	ZmCIM_COST_BOL_3195
153	CIMMYT	COSTEÑO	CÓRDOBA	ZmCIM_COST_COR_3196
154	CIMMYT	NEGRITO	GUAJIRA	ZmCIM_NEGR_GUA_3199
155	CIMMYT	PUYA	MAGDALENA	ZmCIM_PUYA_MAG_3202
157	CIMMYT	PUYA GRANDE	NORTE DE SANTANDER	ZmCIM_PuGRA_NdS_3205
158	CIMMYT	PUYA GRANDE	NORTE DE SANTANDER	ZmCIM_PuGRA_NdS_3206
159	CIMMYT	PUYA GRANDE	NORTE DE SANTANDER	ZmCIM_PuGRA_NdS_3207
160	CIMMYT	PUYA GRANDE	NORTE DE SANTANDER	ZmCIM_PuGRA_NdS_3208
161	CIMMYT	PUYA GRANDE	NORTE DE SANTANDER	ZmCIM_PuGRA_NdS_3209
162	CIMMYT	CHOCOCEÑO	CHOCÓ	ZmCIM_CHOC_CHO_3213
163	CIMMYT	CHOCOCEÑO	CHOCÓ	ZmCIM_CHOC_CHO_3214
164	CIMMYT	CHOCOCEÑO	NARIÑO	ZmCIM_CHOC_NAR_3215
165	CIMMYT	CHOCOCEÑO	CHOCÓ	ZmCIM_CHOC_CHO_3217
166	CIMMYT	CHOCOCEÑO	CHOCÓ	ZmCIM_CHOC_CHO_3219
167	CIMMYT	ANDAQUÍ	CAQUETÁ	ZmCIM_ANDA_CAQ_20491
168	CIMMYT	ANDAQUÍ	PUTUMAYO	ZmCIM_ANDA_PUT_20524
169	CIMMYT	CLAVO	TOLIMA	ZmCIM_CLAV_TOL_20559
170	CIMMYT	YUCATÁN	TOLIMA	ZmCIM_YUCA_TOL_20566
171	CIMMYT	YUCATÁN	TOLIMA	ZmCIM_YUCA_TOL_20570
172	CIMMYT	PIRA	TOLIMA	ZmCIM_PIRA_TOL_20583
173	CIMMYT	HARINOSO DENTADO	CUNDINAMARCA	ZmCIM_HaDEN_CUN_21602
174	CIMMYT	HARINOSO DENTADO	CUNDINAMARCA	ZmCIM_HaDEN_CUN_21636
175	CIMMYT	SABANERO	CUNDINAMARCA	ZmCIM_SABA_CUN_22766
176	CIMMYT	AMAGACEÑO	HUILA	ZmCIM_AMAG_HUI_20587
177	CIMMYT	CHOCOCEÑO	ATLÁNTICO	ZmCIM_CHOC_ATL_4193
178	CIMMYT	NEGRITO	MAGDALENA	ZmCIM_NEGR_MAG_7903

NOTA:

El código de cada accesión en orden hace referencia a:

- 1) Zm: *Zea mays*; 2) CIM: CIMMYT; 3) Raza;
- 4) Código del Banco de Germoplasma del GIRFIN.

B. Anexo: Pasaporte de accesiones GIRFIN (2008 – 2013)

Pasaporte Razas Criollos e Indígenas de Colombia – GIRFIN				
No.	Origen	Raza	Departamento	Accesión
3	GIRFIN	MONTAÑA	NORTE DE SANTANDER	ZmGIR_MONT_NdS_003
4	GIRFIN		NORTE DE SANTANDER	ZmGIR__NdS_004
6	GIRFIN	MONTAÑA	NORTE DE SANTANDER	ZmGIR_MONT_NdS_006
7	GIRFIN	MONTAÑA	NORTE DE SANTANDER	ZmGIR_MONT_NdS_007
11	GIRFIN		NORTE DE SANTANDER	ZmGIR__NdS_011
12	GIRFIN	PUYA	NORTE DE SANTANDER	ZmGIR_PUYA_NdS_012
13	GIRFIN	PUYA	NORTE DE SANTANDER	ZmGIR_PUYA_NdS_013
14	GIRFIN	PUYA	NORTE DE SANTANDER	ZmGIR_PUYA_NdS_014
16	GIRFIN	PUYA	NORTE DE SANTANDER	ZmGIR_PUYA_NdS_016
17	GIRFIN	COSTEÑO	NORTE DE SANTANDER	ZmGIR_COST_NdS_017
19	GIRFIN	MONTAÑA	PUTUMAYO	ZmGIR_MONT_PUT_002
25	GIRFIN	MONTAÑA	PUTUMAYO	ZmGIR_MONT_PUT_008
27	GIRFIN	MONTAÑA	PUTUMAYO	ZmGIR_MONT_PUT_010
29	GIRFIN	MONTAÑA	PUTUMAYO	ZmGIR_MONT_PUT_012
32	GIRFIN		SANTANDER	ZmGIR__SAN_001
33	GIRFIN		SANTANDER	ZmGIR__SAN_002
34	GIRFIN		SANTANDER	ZmGIR__SAN_003
42	GIRFIN	COSTEÑO	BOYACA	ZmGIR_COST_BOY_005
53	GIRFIN	YUCATÁN	TOLIMA	ZmGIR_YUCA_TOL_001
54	GIRFIN	COMÚN	TOLIMA	ZmGIR_COMU_TOL_002
55	GIRFIN	COMÚN	TOLIMA	ZmGIR_COMU_TOL_003
56	GIRFIN	COMÚN	TOLIMA	ZmGIR_COMU_TOL_005
57	GIRFIN	CLAVO	TOLIMA	ZmGIR_CLAV_TOL_006
58	GIRFIN	CLAVO	TOLIMA	ZmGIR_CLAV_TOL_007
59	GIRFIN	CLAVO	TOLIMA	ZmGIR_CLAV_TOL_004
60	GIRFIN	COSTEÑO	CUNDINAMARCA	ZmGIR_COST_CUN_001

61	GIRFIN	COMÚN	CUNDINAMARCA	ZmGIR_COMU_CUN_002
62	GIRFIN		CUNDINAMARCA	ZmGIR_CUN_003
63	GIRFIN	SABANERO	CUNDINAMARCA	ZmGIR_SABA_CUN_004
64	GIRFIN	SABANERO	CUNDINAMARCA	ZmGIR_SABA_CUN_005
65	GIRFIN	SABANERO	CUNDINAMARCA	ZmGIR_SABA_CUN_006
66	GIRFIN	SABANERO	CUNDINAMARCA	ZmGIR_SABA_CUN_007
67	GIRFIN	SABANERO	CUNDINAMARCA	ZmGIR_SABA_CUN_008
68	GIRFIN	SABANERO	CUNDINAMARCA	ZmGIR_SABA_CUN_009
72	GIRFIN	YUCATÁN	CUNDINAMARCA	ZmGIR_YUCA_CUN_013
75	GIRFIN		CUNDINAMARCA	ZmGIR_CUN_016
100	GIRFIN		NORTE DE SANTANDER	ZmGIR_NdS_001
101	GIRFIN	COMÚN	CAUCA	ZmGIR_COMU_CAU_002
190	GIRFIN	COMÚN	VALLE	ZmGIR_COMU_VAL_001
192	GIRFIN	COMÚN	VALLE	ZmGIR_COMU_VAL_003
193	GIRFIN	COMÚN	VALLE	ZmGIR_COMU_VAL_004
194	GIRFIN	MONTAÑA	VALLE	ZmGIR_MONT_VAL_005
195	GIRFIN	COMÚN	VALLE	ZmGIR_COMU_VAL_006
196	GIRFIN	COMÚN	VALLE	ZmGIR_COMU_VAL_007
198	GIRFIN	SABANERO	VALLE	ZmGIR_SABA_VAL_009
201	GIRFIN	CHOCOCEÑO	VALLE	ZmGIR_CHOC_VAL_013
214	GIRFIN	PUYA	GUAJIRA	ZmGIR_PUYA_GUA_001
215	GIRFIN	NEGRITO	GUAJIRA	ZmGIR_NEGR_GUA_002
216	GIRFIN	PUYA	GUAJIRA	ZmGIR_PUYA_GUA_003
217	GIRFIN	COSTEÑO	HUILA	ZmGIR_COST_HUI_001
218	GIRFIN	COSTEÑO	HUILA	ZmGIR_COST_HUI_002
220	GIRFIN		HUILA	ZmGIR_HUI_004
221	GIRFIN	COSTEÑO	HUILA	ZmGIR_COST_HUI_005
222	GIRFIN	ANDAQUÍ	HUILA	ZmGIR_ANDA_HUI_006
223	GIRFIN	CLAVO	TOLIMA	ZmGIR_CLAV_TOL_008
224	GIRFIN	COMÚN	TOLIMA	ZmGIR_COMU_TOL_009
226	GIRFIN	COSTEÑO	SUCRE	ZmGIR_COST_SUC_002
227	GIRFIN	PUYA	CESAR	ZmGIR_PUYA_CES_001
229	GIRFIN	PUYA	CESAR	ZmGIR_PUYA_CES_003
230	GIRFIN	PUYA	CESAR	ZmGIR_PUYA_CES_004
232	GIRFIN	PUYA	CESAR	ZmGIR_PUYA_CES_006
233	GIRFIN	COSTEÑO	MAGDALENA	ZmGIR_COST_MAG_001
234	GIRFIN	COSTEÑO	MAGDALENA	ZmGIR_COST_MAG_002
235	GIRFIN	CARIACO	MAGDALENA	ZmGIR_CARI_MAG_003
236	GIRFIN	PUYA	MAGDALENA	ZmGIR_PUYA_MAG_004
238	GIRFIN	PUYA	MAGDALENA	ZmGIR_PUYA_MAG_006
240	GIRFIN	COMÚN	CAUCA	ZmGIR_COMU_CAU_003
242	GIRFIN	COMÚN	CAUCA	ZmGIR_COMU_CAU_005
243	GIRFIN	COMÚN	CAUCA	ZmGIR_COMU_CAU_006
247	GIRFIN	MONTAÑA	ATLÁNTICO	ZmGIR_MONT_ATL_001

248	GIRFIN	COSTEÑO	ATLÁNTICO	ZmGIR_COST_ATL_002
249	GIRFIN	MONTAÑA	ATLÁNTICO	ZmGIR_MONT_ATL_003
259	GIRFIN	CAPIO	NARIÑO	ZmGIR_CAPI_NAR_008
261	GIRFIN	CAPIO	NARIÑO	ZmGIR_CAPI_NAR_010
262	GIRFIN	Hibrido (MontañaXClavo)	NARIÑO	ZmGIR_MONTxCLAV _NAR_012
263	GIRFIN	SABANERO	BOYACA	ZmGIR_SABA_BOY_001
264	GIRFIN	PUYA	BOYACA	ZmGIR_PUYA_BOY_002
265	GIRFIN	PUYA	BOYACA	ZmGIR_PUYA_BOY_003
266	GIRFIN	SABANERO	BOYACA	ZmGIR_SABA_BOY_004
269	GIRFIN	SABANERO	BOYACA	ZmGIR_SABA_BOY_007
271	GIRFIN	SABANERO	BOYACA	ZmGIR_SABA_BOY_009
272	GIRFIN	SABANERO	BOYACA	ZmGIR_SABA_BOY_010
273	GIRFIN	SABANERO	BOYACA	ZmGIR_SABA_BOY_011
274	GIRFIN	SABANERO	BOYACA	ZmGIR_SABA_BOY_012
276	GIRFIN	MONTAÑA	ANTIOQUIA	ZmGIR_MONT_ANT_001
277	GIRFIN		ANTIOQUIA	ZmGIR__ANT_002
278	GIRFIN	MONTAÑA	ANTIOQUIA	ZmGIR_MONT_ANT_003
279	GIRFIN	MONTAÑA	ANTIOQUIA	ZmGIR_MONT_ANT_005
280	GIRFIN	MONTAÑA	ANTIOQUIA	ZmGIR_MONT_ANT_006
282	GIRFIN	MONTAÑA	ANTIOQUIA	ZmGIR_MONT_ANT_009
283	GIRFIN	PUYA	CÓRDOBA	ZmGIR_PUYA_COR_001
285	GIRFIN	COSTEÑO	CÓRDOBA	ZmGIR_COST_COR_003
286	GIRFIN	COSTEÑO	CÓRDOBA	ZmGIR_COST_COR_004
287	GIRFIN	COSTEÑO	CÓRDOBA	ZmGIR_COST_COR_005
288	GIRFIN	CARIACO	CÓRDOBA	ZmGIR_CARI_COR_006
289	GIRFIN	CARIACO	CÓRDOBA	ZmGIR_CARI_COR_006-2
292	GIRFIN	COSTEÑO	CÓRDOBA	ZmGIR_COST_COR_009
293	GIRFIN	CARIACO	CÓRDOBA	ZmGIR_CARI_COR_010
294	GIRFIN	COSTEÑO	CÓRDOBA	ZmGIR_COST_COR_011
296	GIRFIN	COSTEÑO	BOLÍVAR	ZmGIR_COST_BOL_002
297	GIRFIN	PUYA	BOLÍVAR	ZmGIR_PUYA_BOL_003
Trip	GIRFIN	<i>Tripsacum</i>	-----	Tri_GIR_Trips
Ne_P	GIRFIN	Negro Perú	-----	ZmGIR_NePER

NOTA:

El código de cada accesión en orden hace referencia a:

- 1) Zm: Zea mays; 2) GIR: GIRFIN; 3) Raza;
- 4) Código del Banco de Germoplasma del GIRFIN.

Referencia Bibliográfica

1. Bedoya, C.A. 2012. Estudios de diversidad genética en poblaciones de maíz (*Zea mays* L.) evaluadas con microsatélites. Universitat de les Illes Balears, Departamento de Biología. Tesis Doctoral.
2. Bedoya, C.A. 2013. Diversidad genética en maíces nativos mexicanos tropicales. *Rev. Fitotec. Mex.* 36: 329-338.
3. Bitocchi E, Nanni L, Rossi M, Rau D, Bellucci E, Giardini A, Buonamici A, Vendramin GG, Papa R. *Mol Ecol.* 2009 Feb. Introgression from modern hybrid varieties into landrace populations of maize (*Zea mays* ssp. *mays* L.) in central Italy. Dipartimento di Scienze Ambientali e delle Produzioni Vegetali, Università Politecnica delle Marche, Italy. 18(4):603-21. doi: 10.1111/j.1365-294X.2008.04064.x.
4. Botstein D, White RL, Skolnick M, and Davis RW, (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet* 32: 314-331.
5. Bracco M, Lia VV, Gottlieb AM, Cámara Hernández J, Poggio L. (2008). Genetic diversity in maize landraces from indigenous settlements of Northeastern Argentina. Departamento de Ecología, Genética y Evolución, Universidad de Buenos Aires, Argentina. 135(1):39-49. doi: 10.1007/s10709-008-9252-z. Epub 2008 Mar 6.
6. Bracco M, Lia VV, Poggio L, Cámara JAH and Gottlieb AM (2013). Genetic characterization of autochthonous races of maize from Misiones, Argentina. *Rev. Cienc. Tecnol.* 20: 52-60.
7. Bravo, A.L. 2009. Caracterización morfológica y molecular de accesiones de maíz negro (*Zea mays* L.) mediante análisis de secuencias simples repetidas. Universidad San Francisco de Quito. Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales.
8. Caetano et al. ORG. (2014). Evaluación del grado de variación genética en las razas criollas e indígenas de maíz en Colombia. Informe final. UNAL sede Palmira: GIRFIN.

9. Cardona, J.O. 2010. Análisis de la diversidad genética de las razas colombianas de maíz a partir de datos Roberts et al. (1957) usando la estrategia Ward-MLM. *CIENCIAGRO* 2: 199-207.
10. Chiguachi, D.M. et al. 2011. Diagnóstico de maíces criollos de Colombia. Contexto. Campaña Semillas de Identidad (Campaña por la Defensa de la Biodiversidad y la Soberanía Alimentaria). Grupo Semillas (Conservación y Uso Sostenible de la Biodiversidad).
11. Departamento Nacional de Estadística (DANE-SISAC). 2004. Encuesta nacional agropecuaria.
12. Departamento Nacional de Estadística (DANE-SISAC). 2004. Maíz tecnificado en Colombia.
13. Efimenko VG, Kozhukhova NE, Sivolap IuM. *Tsitol Genet.* 2005 Mar-Apr. Polymorphism of microsatellite DNA and study of maize genetic resources. 39(2):10-5. Russian.
14. Goldstein DB, Provan J, Soranzo N, Wilson NJ, and Powell W (1997) A low mutation rate for chloroplast microsatellites. *Genetics* 153: 943-178.
15. Goldstein DB, Schlötterer C (1999). *Microsatellites: Evolution and applications.* Oxford University Press, New York; p352.
16. González, E.G. 2003. Microsatélites: sus aplicaciones en la conservación de la biodiversidad. *Rev. Graellsia* 59: 377-388.
17. Gurung D.B. et al. 2010. Analysis of Genetic Diversity Within Nepalese Maize Populations Using SSR Markers. *Nepal Journal of Science and Technology.* Volumen 11 de 2010. ISSN 1994–1412.
18. Hartings H, Berardo N, Mazzinelli GF, Valoti P, Verderio A, Motto M. *Theor Appl Genet.* 2008 Oct. Assessment of genetic diversity and relationships among maize (*Zea mays* L.) Italian landraces by morphological traits and AFLP profiling. CRA - Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura, Sezione di Bergamo, Bergamo, Italy. 117(6):831-42. doi: 10.1007/s00122-008-0823-2. Epub 2008 Jun 27.
19. Hedrick PW (2005). *Genetics of populations.* Jones and Bartlett Publishers, Inc. Londres.

20. Kanagarasu S. et al. 2013. Determination of Genetic Polymorphism Among Indigenous and Exotic Maize Inbreds Using Microsatellite Markers. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 12(39), 25 de September, 2013. ISSN 1684–5315, Academic Journal.
21. Kimura M, Crown JF (1964). The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* 49: 725-738.
22. Kosman E & KL (2005). Similarity coeficientes for molecular markers in studies of genetic relationships between individuals for haploid, diploid, and polyploid species. *Molecular Ecology* 14: 415-424.
23. Kumar A. et al. 2012. Genetic Diversity of Maize Genotypes on the Basis of Morpho–Physiological and Simple Sequence Repeat (SSR) Markers. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 11(99), 11 December, 2012. ISSN 1684–5315, Academic Journal.
24. Le Clerc V, Bazante F, Baril C, Guiard J, Zhang D. *Theor Appl Genet*. 2005 Jan. Assessing temporal changes in genetic diversity of maize varieties using microsatellite markers. *Laboratoire BioGEVES, Unité expérimentale du Magneraud, Surgères, France*. 110(2):294-302. Epub 2004.
25. Morales, M.L. 2002. Caracterización genotípica de plantas de maíz (*Zea mays* L.) utilizando secuencias microsatélites distribuidas uniformemente sobre el genoma. Las tesinas de Belgrano. Universidad de Belgrano, Buenos Aires, Argentina.
26. Lia V.V. et al. 2009. Microsatellite variation in maize landraces from Northwestern Argentina: genetic diversity, population structure and racial affiliations. Departamento de Ecología, Genética y Evolución. Universidad de Buenos Aires. Editorial Springer–Verlang 2009. *Journal Theoretical and Applied Genetics*. Vol. 119, p.1053, 29 July 2009. ISSN 0040–5752.
27. Liu K, Goodman M, Muse S, Smith JS, Buckler E, Doebley J. *Genetics*. 2003 Dec. Genetic structure and diversity among maize inbred lines as inferred from DNA microsatellites. Department of Statistics, North Carolina State University, USA. 165(4):2117-28.
28. Marshall DR, Brown AHD (1975). Optimun sampling strategies in genetic conservation. In: Frankel, OH. And Hawkes JG. (eds). *Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow*. Cambridge Univ. Press.

29. Miller, Mark (1997). Programa for the analysis of allozyme and molecular population genetic data TFGA: Tools For Population Genetic Analysis. Northern Arizona University. P. 1-30.
30. Morales, M.L. 2002. Caracterización genotípica de plantas de maíz (*Zea mays* L.) utilizando secuencias microsatélites distribuidas uniformemente sobre el genoma. Las tesinas de Belgrano. Universidad de Belgrano, Buenos Aires, Argentina.
31. Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Am. Nat.* 106: 283-292.
32. Paliwal. R.L. 2001. El maíz en los trópicos: mejoramiento y producción. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma.
33. Peña, D.J. 2011. Evaluación de dos poblaciones sintéticas de maíz mediante técnicas agronómicas y moleculares. Universidad de Zaragoza, Departamento de Agricultura y Economía Agraria. Consejo Superior de Investigación Científica.
34. Qi-Lun Y. et al. 2007. Genetic Diversity of Maize (*Zea mays* L.) Landraces From Southwest China Based on SSR Data. (Formerly *Acta Genetica Sinica*). *Journal of Genetics and Genomics*, Vol. 34, No. 9, p.851–860. September 2007.
35. Qi-Lun Y, Ping F, Ke-Cheng K, Guang-Tang P. *J Genet.* 2008 Dec. Genetic diversity based on SSR markers in maize (*Zea mays* L.) landraces from Wuling mountain region in China. *Indian Academy of Science. Journal of Genetics*, Vol. 87, No. 3, p287, December 2008.
36. Reif JC, Hamrit S, Heckenberger M, Schipprack W, Peter Maurer H, Bohn M, Melchinger AE. *Theor Appl Genet.* 2005 Sep. Genetic structure and diversity of European flint maize populations determined with SSR analyses of individuals and bulks. Institute of Plant Breeding, Seed Science, and Population Genetics, University of Hohenheim, Germany. 111(5):906-13. Epub 2005 Oct 18.
37. Reif JC, Warburton ML, Xia XC, Hoisington DA, Crossa J, Taba S, Muminović J, Bohn M, Frisch M, Melchinger AE. *Theor Appl Genet.* 2006 Jul. Grouping of accessions of Mexican races of maize revisited with SSR markers. Institute of Plant Breeding, Seed Science, and Population Genetics, University of Hohenheim, Germany. 113(2):177-85. Epub 2006 Apr 22.
38. Roberts LM, Grant UJ, Ramirez RE, Hatheway WH and Smith DL, Mangelsdorf PC (1957). Razas de maíz en Colombia. Ministerio de Agricultura de Colombia, Investigaciones especiales. Boletín Técnico No 2. Editorial Máxima, Bogotá, Colombia.

39. Ruiz de Galarreta JI, Guenaga M, Castán CA and Rodríguez AA (2004). Genetic variation in pure lines of maize using microsatellite markers. Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario (Victoria-Zaragoza). II Congreso de Mejora Genética de Plantas. Actas de Horticultura N°41: 95-96.
40. Russell JR, Fuller JD, Macaulay M, Hatz BG, Jahoor A, Powell W, Waugh R (1997) Direct comparison of levels of genetic variation among barley accessions detected by RFLPs, AFLPs, SSRs and RAPDs. *Theor Appl Genet* 95 : 714—722.
41. Sánchez G., J.J. 2011. Diversidad del maíz y el teocintle. “Recopilación, generación, actualización y análisis de información acerca de la diversidad genética de maíces y sus parientes silvestres en México”. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Manuscrito.
42. Sambrock, J., Fritschi E.F., Maniatis T. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, N. Y.
43. Sambrock, J., Maccallum, P., Russel, D. 2001 *Molecular cloning: a laboratory manual*. 3rd. ed. Cold Spring Harbor Press, N.Y.
44. Serrano, J.A. 2009. El origen y la diversidad del maíz en el continente americano. Editorial Review. Universidad Autónoma de la Ciudad de México.
45. Shah Z. A. et al. 2009. Genetic Diversity of Pakistani Maize Genotypes Using Chromosome Specific Simple Sequence Repeat (SSR) Primer Sets. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 8(3), 4 February, 2009. ISSN 1684–5315, Academic Journal.
46. Sharma L, Prasanna BM, Ramesh B. 2010 Jun. Analysis of phenotypic and microsatellite-based diversity of maize landraces in India, especially from the north east Himalayan region. Division of Genetics, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi, India. 138(6):619-31. doi: 10.1007/s10709-010-9436-1. Epub 2010 Jan 27.
47. Slatkin M (1985). Estimating levels of gene flow in natural populations. *Genetics* 99: 323-335.
48. Smith J.S.C. et al. 1997. An Evaluation of the Utility of SSR Loci as Molecular Markers in Maize (*Zea mays* L.): Comparisons With Data From RFLPS and Pedigree. Springer–Verlang 1997. *Journal Theoretical and Applied Genetics*. Vol 95, p.163–173, February 1997.

49. Torres M.L. et al. 2012. Molecular and Morphological Characterization of S2 Lines of Banck Corn (*Zea maíz L.*) from Ecuadorian Andes. Laboratorio de Biotecnología Vegetal. Universidad San Francisco de Quito, Ecuador. Vol. 4, No. 1 p. B11–B18, Junio 30 de 2012. ISSN 1390–5384.
50. Wright S (1978). Evolution and the genetics of populations, variability within and among natural populations, Vol 4. University of Chicago Press. Chicago.
51. Xia X.C et al. 2004. Genetic Diversity Among CIMMYT Maize Inbred Lines Investigated With SSR Markers: Lowland Tropical Maize. Crop Science Society of America. Vol. 44, p.2230–2237, December 2004.
52. Xu SX, Liu J and Liu GS (2004). The us of SSRs for prediciting the hybrid yield heterosis in 15 key inbred lines of chinese maize. *Hereditas* 141: 207-215.
53. Yan HM, Dong C, Zhang EL, Tang CF, A XX, Yang WY, Yang YY, Zhang FF, Xu FR. *Yi Chuan*. 2012 Jan. Analysis of genetic variation in rice paddy landraces across 30 years as revealed by microsatellite DNA markers. *Yunnan Academy of Agricultural Sciences*, Kunming, China. 34(1):87-94.
54. Yao Q, Yang K, Pan G, Rong T. *J Genet Genomics*. 2007 Sep, Genetic diversity of maize (*Zea mays L.*) landraces from southwest China based on SSR data. *Maize Research Institute, Sichuan Agricultural University, China*. 34(9):851-859