



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**Variables morfométricas y análisis molecular
para la identificación de razas colombianas de
Maíz (*Zea mays* L.)**

Richard Danilo Peña Cuellar

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Palmira, Colombia

2017

Variables morfométricas y análisis molecular para la identificación de razas colombianas de Maíz (*Zea mays* L.)

Richard Danilo Peña Cuellar

Tesis de investigación presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ciencias Biológicas

Directora:

Doctora en Ciencias, Creuci Maria Caetano

Línea de Investigación: Biotecnología Vegetal

Grupo de Investigación:

Grupo de investigación en recursos Fitogenéticos Neotropicales GIRFIN

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Palmira, Colombia

2017

Dedicatoria

A mi familia en especial a mi madre Pluvia Amparo por su apoyo incondicional, a Alejandra ya que con su asesoría y respaldo e logrado finalizar esta etapa.

Resumen

Colombia es un país mega diverso, esta diversidad también se extiende a plantas cultivadas, en el caso de maíz (*Zea mays* L.) desde la década de 1950 están reportadas 23 razas de maíz asociadas a comunidades campesinas é indígena, en la actualidad la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira mediante el grupo de investigación GIRFIN y el ICA estudian la diversidad genética presente en este cultivo con el fin de conocer cuál es el estado actual de estas razas de maíz, para lo cual se realizó una serie de colectas, las cuales permitieron la caracterización de 277 accesiones esta se realizó a nivel morfológico utilizando los descriptores de Wellhausen, CIMMYT y IBPGR, los datos obtenidos permitieron realizar un estudio morfométrico en el cual se determinaron los componentes principales limitando de 65 a 15 variables evaluadas como las mas relevantes para la identificación de razas de maíz, además se presentan los datos obtenidos en la caracterización a nivel molecular en el cual se presentan diferencia genéticas marcadas para cada una de las razas.

Palabras claves: maíz, *Zea mays* L., Razas de maíz, Caracterización

Abstract

Colombia is a mega diverse country, this diversity also extends to cultivated plants. In the case of maize (*Zea mays* L.) since the 1950s, 23 maize races associated with peasant and indigenous communities have been reported. National of Palmira Headquarters through the research group GIRFIN and the ICA study the genetic diversity present in this crop in order to know what the current state of these maize breeds, for which a series of collections were made, which allowed The characterization of 277 accetions was performed at the morphological level using the Wellhausen, CIMMYT and IBPGR descriptors, the data obtained allowed to perform a morphometric study in which the main components were determined limiting from 65 to 15 variats evaluated as the most relevant for the Identification of races of maize, besides the data obtained in the characterization at the molecular level in the Which show marked genetic difference between each of the races.

Keywords: maize, *Zea mays* L., Races of maize, characterization

Contenido

	Pág.
1. Introducción.....	1
1.1 Planteamiento del problema	6
1.2 Hipótesis.....	7
1.3 Objetivo general.....	8
1.3.1 Objetivos específicos.....	8
2. Marco Referencial	9
2.1. Descripción de la especie.....	9
2.2 Diversidad en Maíz y concepto de Raza	11
2.2. El maíz en Colombia	15
2.3. Análisis de la diversidad de maíces criollos: Morfometría y técnicas moleculares 20	
3. Materiales y Métodos	25
3.1. Localización	25
3.2. Material biológico (Evaluación en Campo)	26
3.3. Evaluación en campo.....	32
3.4. Análisis en laboratorio	36
4. Resultados y Discusión	39
4.1 Análisis descriptivo	39
4.2 Análisis de Correlación	44
4.3 Análisis de Componentes principales (ACP).....	46
4.4 Análisis de los gráficos de asociación	49
4.6 Parámetros de Diversidad genética	57
4.7 Identificación de las razas de maíces.....	65
5. Conclusiones.....	67
6. Bibliografía	71

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1. Representación gráfica de las teorías evolutivas en el maíz..	3
Figura 2. Ilustración del maíz,.	9
Figura 3. Representación gráfica del número de razas	15
Figura 4. Distribución geográfica en Colombia de razas de maíz	18
Figura 5. Representación de parcela experimental y estadística.	33
Figura 6. Embolsado de flores	34
Figura 7. (A) macollamiento (B) Acame.	43
Figura 8. Conformación de grupos Maíces Tierras bajas (MTB).	49
Figura 9. Fotografías comparación CIMMYT_ accesiones colectadas GIRFIN.	52
Figura 10. Conformación de grupos a Maíces de Tierras Altas (MTA).	53
Figura 11. Fotografías comparación testigo CYMMIT.	56
Figura 12. Estructura genética.	58
Figura 13. Dendrograma de distancia genética	60
Figura 14. Dendrograma de la población GIRFIN	63
Figura 15. Dendrograma de la población CIMMYT	64

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. Clasificación de razas de maíces en Colombia.....	4
Tabla 2. Clasificación taxonómica del maíz.....	10
Tabla 3. Razas de maíz.....	12
Tabla 4. Producción de maíz en Colombia.....	16
Tabla 5. Acciones repatriadas del Banco de Germoplasma de CIMMYT.....	27
Tabla 6. Acciones de maíz de la colección de Tierras bajas (MTB).....	28
Tabla 7. Acciones de maíz de la colección de Tierras altas (MTA).....	29
Tabla 8. Acciones evaluadas por marcadores ADN Cloroplastico.....	30
Tabla 9. Acciones evaluadas por marcadores RAM.....	31
Tabla 10. Acciones evaluadas por marcadores SSR.....	32
Tabla 11. Variables morfométricas y morfológicas evaluadas.....	35
Tabla 12. Cebadores utilizados en los análisis de cpADN,.....	37
Tabla 13. Cebadores utilizados en la caracterización molecular.....	37
Tabla 14. Cebadores SSR empleados para determinar polimorfismo.....	38
Tabla 15. Análisis variables cuantitativas evaluadas Maíces Tierras Bajas (MTB).....	40
Tabla 16. Análisis variables cuantitativas evaluadas Maíces Tierras Altas (MTA).....	41
Tabla 17. Valores de correlación evaluados en los maíces tierras bajas (MTB).....	44
Tabla 18. Valores de correlación evaluados en los maíces tierras altas (MTA).....	45
Tabla 19. Proporción de la varianza asociada MTB y MTA.....	46
Tabla 20. Acciones y razas.....	50
Tabla 21. Análisis MLG para <i>negrito</i> variable LPED, PPR y IM.....	51
Tabla 22. Acciones y razas asociadas al os grupos conformados.....	54
Tabla 23. Heterosis y porcentaje de Loci polimórfico.....	59
Tabla 24. Microsatélites analizados (SSR).....	61
Tabla 25. Razas de maíz de tierras bajas (MTB), mayor aporte variabilidad.....	65
Tabla 26. Razas de maíz de tierras altas (MTA), mayor aporte variabilidad.....	66

1. Introducción

De acuerdo con los datos reportados por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, la producción mundial de maíz en 2016 fue de 1040 millones de toneladas, los principales países productores en toneladas métricas son los Estados Unidos (384 mil), China (219 mil) y Brasil (86 mil), de allí que constituye la fuente de alimentación, insumo industrial y combustible más utilizado en el mundo (USDA, 2017).

A través de la historia se han planteado diversas teorías sobre el origen y evolución del maíz; ya que es considerada una de las primeras plantas utilizadas por el ser humano en la agricultura. La evidencia más antigua del maíz como alimento humano se presenta en los registros arqueológicos de México, donde algunas pequeñas mazorcas de maíz estimadas en más de 5 mil años de antigüedad, fueron encontradas en cuevas de los habitantes primitivos (Wilkes, 1985; Miranda, 1995). En Argentina, Fernández (1995) reportó registros fósiles de maíz, asociadas a asentamientos de hasta 8 mil años A.C., en la actualidad se presentan diferentes teorías relacionadas con los Centros de origen y diversificación.

Anderson (1945), plantea que el maíz se habría originado en el continente asiático, en la región del Himalaya, producto de un cruzamiento entre *Coix* spp. y algunas *Andropogóneas*, probablemente especies de sorgo, ambos parentales con cinco pares de cromosomas. Por su parte Mangelsdorf y Reeves (1959), plantearon su origen en los altos Andes de Bolivia, Ecuador y Perú, la principal justificación para esta hipótesis, fue la presencia de maíz reventón en América del Sur y la amplia diversidad genética presente en los maíces andinos, especialmente en las zonas altas de Perú.

Otros autores, plantearon el origen del maíz en México, donde esta especie y el teosinte, han coexistido desde la antigüedad y ambas, presentan una diversidad muy amplia, de acuerdo con lo descrito por Wheatherwax (1955), Iltis (1983), Galinat (1988) y Wilkes (1989), el hallazgo de polen fósil y de mazorcas de maíz en cuevas de las zonas arqueológicas, apoya seriamente la posición y teoría de origen mexicano. Por lo que, esta cuenta con mayor aceptación y apoyo por la comunidad científica, proponiendo a Meso-América como Centro de origen y distribución del maíz.

En cuanto a la distribución geográfica, el cultivo está presente en todo el continente americano, desde Canadá hasta Argentina, ya que, esta planta fue dispersa por los pueblos originarios, y posteriormente introducida en Europa en el siglo XVII (Doebley, 1984; Poggio *et al.*, 1998 Doebley, 1990).

El proceso evolutivo de la especie, también ha sido estudiado, una de las primeras teorías menciona la deriva a partir del teosinte, debido a mutaciones y selección natural (Longley, 1941), mientras que Beadle (1980) afirma que fue debida a selección hecha por el hombre, los primeros agricultores fitomejoradores. El hecho de que el teosinte es el antecesor silvestre y/o allegado al maíz, generalmente aceptado como el material que está directamente relacionado con el origen del maíz cultivado.

La hipótesis de Beadle quien explicó la evolución del maíz como una forma domesticada de teosinte, ha encontrado considerable apoyo por diversos autores; (Iltis, 1983; Mangelsdorf, 1986; Galinat, 1988, 1995; Goodman, 1988; Doebley, 1990). En la figura 1 se observa la representación gráfica de las teorías presentadas.

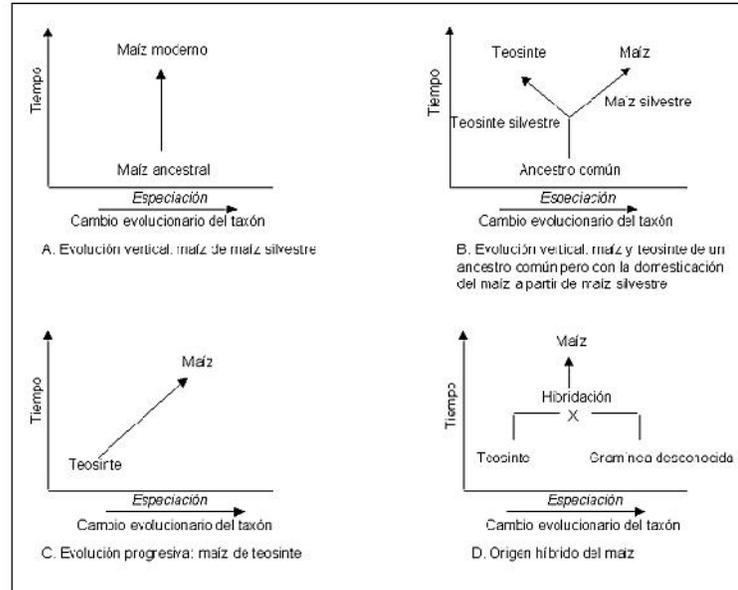


Figura 1. Representación gráfica de las teorías evolutivas en el maíz. A) Evolución vertical: se el maíz proviene de un maíz ancestral y adquirió sus características a lo largo del tiempo; B) Evolución vertical: el maíz y el teosinte tiene un ancestro común y las plantas sufrieron procesos de especiación; C). Evolución Progresiva: el maíz es el resultado de la evolución directa del teosinte. D). El maíz es el resultado de la hibridación natural entre teosinte y una gramínea desconocida.

Por tratarse de una planta alógama presenta gran diversidad genética, que ha sido explorada continuamente en programas de mejoramiento genético vegetal, para la formación de híbridos y nuevos cultivares, el objetivo de estos cruzamientos, está encaminado al aumento del rendimiento y fijación de características como resistencias, calidad de grano etc. (Granados *et al.*, 1993).

Como cultivo agrícola y recurso fitogenético es de interés por sus características alimenticias, económicas y culturales, ya que se considera patrimonio biocultural de las comunidades tradicionales de Mesoamérica y Suramérica (Tetreault *et al.*, 2012). En Colombia, un claro ejemplo de la permanencia de tradiciones alrededor del maíz, es el pueblo indígena Kamentsa, ubicado en el Valle del Sibundoy, Putumayo, el cual se autodenomina “Los hijos del maíz”, ya que hace parte de su gastronomía desde tiempos inmemoriales (Headquarters y Guasca, 2014).

El continente Americano cuenta con gran variabilidad en la morfología de esta planta, consciente de esto, en la década del 50', se realizó uno de los estudios de diversidad más importante para el desarrollo del cultivo, con el inicio de colectas y caracterización de los maíces, esto permitió establecer los caracteres morfológicos para la clasificación de razas de maíz, (McClintock, 1978; Roberts *et al.*, 1957).

De acuerdo con los resultados de Roberts *et al.*, (1957), en Colombia se reportaron 23 razas distribuidas en tres grupos raciales: Razas Primitivas (RP), Razas Probablemente Introducidas (RI) y Razas Híbridas Colombianas (RHC). En la tabla 1, se describe el nombre de las razas de maíces colombianos reportados para Colombia.

Tabla 1. Clasificación de razas de maíces en Colombia descritas por Roberts *et al.*, 1957

CLASIFICACIÓN GRUPO RACIAL	RAZA
Primitivas	Pollo Pira
Probablemente introducidas	Pira Naranja Clavo Güira Maíz Dulce Maíz Harinoso Dentado Cariaco Andaquí Imbricado Sabanero
Híbridas	Cabuya Montaña Capiro Amagaceño Común Yucatán Cacao Costeño Negrito Puya Puya Grande Chococeño

Dada la existencia de la base genética colectada y reportada por Roberts *et al.*, (1957), surge el interés de evaluar la presencia y evolución de los maíces reportados en Colombia, el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) y el Grupo de Investigación en Recursos Fitogenéticos Neotropicales (GIRFIN), iniciaron estudios relacionados con la diversidad genética de los maíces colombianos. Los resultados del proyecto de investigación permitieron conocer el estado actual de la diversidad de razas de maíz en Colombia, lo cual ha permitido desarrollar estrategias de conservación de estos recursos.

En consecuencia para dar continuidad al trabajo realizado por los investigadores del programa GIRFIN y el ICA, se ha planteado como objetivo de este estudio la evaluación de los caracteres morfométricos presentes en las accesiones de maíces colectadas, así como la determinación de parámetros genéticos moleculares que permitan facilitar los procesos de identificación de las razas que actualmente se distribuyen en Colombia.

1.1 Planteamiento del problema

Los programas de conservación han desarrollado metodologías para la caracterización, evaluación, mantenimiento y aprovechamiento de este recurso, debido a que su diversidad representa el material promisorio en mejoramiento genético vegetal y mejoramiento participativo (Tosquy, O. H.; Vásquez, A.; López, V. O., 2001; Caetano *et al.*, 2015).

La mayor riqueza y diversidad genética se ha reportado en América, por ello los estudios realizados por Wellhausen *et al.*, (1952) y Roberts *et al.*, (1957) han sido la base del conocimiento en la caracterización de razas de maíces en el continente. En el territorio colombiano fueron evaluadas aproximadamente 2 mil accesiones distribuidas entre tres grupos raciales, sin embargo, las evaluaciones actuales requieren avanzar en el desarrollo de una metodología que sirva para identificar de forma simple y eficiente, cada una de las razas reportadas y la existencia de nuevos grupos desconocidos.

Se espera que mediante la evaluación de caracteres morfológicos cuantitativos y la diversidad genética molecular, presente en las accesiones de maíz colectadas por GIRFIN sea posible determinar variables morfométricas y parámetros moleculares respectivamente, para la identificación de razas.

1.2 Hipótesis

La variabilidad existente en los caracteres morfométricos y la diversidad genética evaluada a través de marcadores moleculares, presente en la colección biológica de maíces colombianos del GIRFIN-UNAL permiten identificar razas de *Zea mays* L.

H₀: Los caracteres morfométricos y moleculares permiten la identificación de razas de maíz.

H₁: Los caracteres morfométricos y moleculares no permiten la identificación de razas de maíz.

1.3 Objetivo general

Evaluar variables morfométricas y datos moleculares en una colección de maíces (*Zea mays* L.) de CIMMYT -GIRFIN para identificar razas criollas Colombianas.

1.3.1 Objetivos específicos

- 1) Establecer los descriptores morfológicos más relevantes para discriminar las accesiones de maíz evaluadas.
- 2) Identificar los parámetros de diversidad genética obtenida a través de marcadores moleculares SSR, cpADN y RAM para la diferenciación de las accesiones de maíz evaluadas.
- 3) Identificar las razas de maíces criollos a partir de las variables morfométricas y parámetros moleculares.

2. Marco Referencial

2.1. Descripción de la especie

El maíz es una gramínea de tallo macizo, recto y largo, de hojas comúnmente alargadas y en disposición alterna, sus flores masculinas están agrupadas en racimos y las flores femeninas agrupadas en mazorcas que reúnen hasta un millar de semillas dispuestas sobre un núcleo (Figura 2).



Figura 2. Ilustración del maíz, según Francisco Manuel Blanco, Flora de Filipinas, Gran edición, Atlas II, 1880-1883.

La planta de maíz presenta un fenómeno de monoecia, es decir que las flores femeninas y masculinas se encuentran en la misma planta, sin embargo, están en diferente posición en el tallo, esto permite que se presente alogamia y exista un mayor porcentaje de polinización cruzada natural, favoreciendo el alto flujo genético que responde a la gran variabilidad de características agronómicas propias del cultivo.

Taxonomicamente se ha clasificado según varios autores, donde se incluye formas cultivadas, como *Zea mays* L. y formas silvestres denominadas teocintes perenes (*Zea mexicana* Schrad. Kuntze *Lex. Gen. Phan*), *Zea perennis* (Hitchc.), *Zea diploperennis* Iltis. (Reeves y Mangelsd, 1943; Doebley y Guzmán, 1979; Hallauer, 2010). En la tabla 2 se presenta la clasificación realizada por Bianchi *et al.*, (1989).

Tabla 2. Clasificación taxonómica del maíz (Bianchi *et al.*, 1989).

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

2.2 Diversidad en Maíz y concepto de Raza

La diversidad genotípica del maíz ha sido la base para el estudio y aprovechamiento de la variabilidad en la especie, y esto ha contribuido al desarrollo de los cultivares más productivos. Los análisis de variabilidad de caracteres en maíz, contempla muchos parámetros cualitativos y cuantitativos en poblaciones seleccionadas del cultivo, lo que ha permitido seleccionar los principales tipos o formas que se presenta, a estas formas, se han denominado razas (Arias *et al.*, 2014).

Kuleshov (1929) definió raza como una subdivisión de una especie de la biología que se forma a partir de ciertas características que diferencian a sus individuos de otros, sin embargo, el Congreso Internacional de Botánica (CIB-1905), eliminó el valor taxonómico de raza, a pesar de ello, su uso se mantiene en el lenguaje.

En términos generales, una raza es un grupo de individuos que se subdividen de una especie, a partir de una serie de características que se transmiten por herencia, las cuales establece categorías específicas que las identifica, a través, de caracteres genéticos como regiones conservadas de ADN, estructuras citogenéticas como el número de nudos cromosómicos, y unidades morfométricas que miden tamaños y formas, las cuales se presentan con mayor frecuencia, y que a su vez responden a las condiciones de aislamiento estacional, altitudinal, geográfico, edáfico y/o ecológico (Anderson y Cutler 1942, Harlan y de Wet 1971, Hernández y Alanís 1970).

La categoría de raza, permite establecer un sistema de referencia que comprende la variación de maíces, con ello es posible organizar las accesiones colectadas en los bancos de germoplasma, de manera eficiente, que contribuye a la conservación de la diversidad de este recurso genético (Wellhausen, 1988; Perales y Golicher 2011).

En América se han reportado diversos grupos raciales de maíz, los cuales tienen un nombre común en cada región, así por ejemplo, la raza “Sabanero” presente en Colombia tiene características similares, con la raza “Cacahuacintle”, reportada en México en 1952, por lo tanto, aunque las razas de maíz tienen zonas agroecológicas específicas de acuerdo a su adaptabilidad, su distribución es lo suficientemente amplia para encontrarlas en todo el continente Americano (Perales y Golicher 2011). En la tabla 3 se mencionan algunas de las razas de maíz registradas en América.

Tabla 3. Razas de maíz registradas en los diferentes países americanos. Número de razas por país, con sus respectivos nombres (Serratos *et al.* 2009).

País	Razas
Argentina (47)	Amarillo Ocho Hileras, Amarillo de Ocho, Altiplano, Amargo, Avatí Morotí, Avatí Morotí Mita, Avatí Morotí Ti, Avatí pichingá, Azul, Blanco Ocho Hileras, Calchaqui, Camelia, Canario de Formosa, Capia Blanco, Capia Garrapata, Capia Rosado, Capia Variegado, Catete Oscuro, Chaucha Amarillo, Chaucha Blanco, Chulpi, Colita Blanco, Complejo Tropical, Cravo, Cristalino Amarillo, Cristalino Amarillo Anaranjado, Cristalino Blanco, Cristalino Colorado, Cristalino Naranja, Cristalino Rojo, Culli, Cuzco, Dentado Blanco Rugoso, Dentado AmARillo, Dentado Blanco, Dentado Amarillo Marlo Fino, Dentado Blanco Marlo Fino, Dulce, Marrón, Morochito, Negro, Pericarpio Rojo, Perla, Perlita, Pisingallo, Socorro, Tuzón, Venezolano
Bolivia (77)	Achuchema, Amarillo Subtropical, Altiplano, Aperlado, Argentino, Ayzuma, Bayo, Blanco Mojo, Blanco Yungueño, Blando Amazónico, Blando Blanco, Blando CruceñoCamba, Canario, Cateto, Chake Sara, Checchi, Cholito, Chuncula, Chuspillu, Concebideño, Colorado, Cordillera, Confite Puneño, Coroico, Coroico AmARillo, CoroicoBlanco, Cubano amarillo, Cubano Blanco, Cubano Dentado, Cuzco Boliviano, Cuzco Huilcaparú, Duro Amazónico, Duro Beniano, Enano, Harinoso de Ocho HilerasHuaca Songo, Hualtaco, HuillcapARu, Jampe Tongo, Janka Sara, Kajbia, Karapampa, Kcello, Kellu, Kellu HuillcapARu, Kepi Siqui, Kulli, Morado, Morochillo, MorochoMorocho Chaqueño, Morocho Chico, Morocho Grande, Morocho Ocho Hileras, Morocho Catorce Hileras, Niñuelo, Oke, PARú, Pasankalla, Patillo, PATillo Grande Perla, Perla Amarillo, Perla Primitivo de los Llanos, Perola, Pisankalla, Pojoso Chico, Pororo, Pura, Purito, Reventón, Tuimuru, Uchuquilla, Yungueño
Brasil (44)	Caiano, Caingang, Canario de Ocho, Caribe Precoz, Cateto, Cateto Sulino, Cateto Sulino Precoce, Cateto Sulino Escuro, Cateto Sulino Grosso, Cateto Assis Brasil, Cateto Grande, Cateto Nordista Precoce, Chavantes, Cravo, Criollo de Cuba, Cristal Semidentado, Cristal Sulino, Cravo Riograndense, Cravo Paulista, Dente AmARElo, Dente Riograndense, Dente Riograndense Rugoso, Dente Riograndense Liso, Dente Paulista, Dente Branco, Dente

	Branco Riograndense, Dente Branco Paulista, Dente Colorado, Entrelazado, GuARaní Popcorns, Hickory King, Indígena, Lenha, Morotí Precoce, Morotí Guapí, Perola, Pinha, Pipoca, Saint Croix, Semidentado Riograndense, Semidentado Paulista, Semidente AmARElo, Semidente Azul, Tusón
Colombia (23)	Amagaceño, Andaquí, Cabuya, Cacao, Capio, Cariaco, Chococeño, Clavo, Común, Costeño, Güirua, Imbricado, Maíz Dulce, Maíz Harinoso Dentado, Montaña, Negrito, Pira, Pira Naranja, Pollo, Puya, Puya Grande, Sabanero, Yucatán
Cuba (11)	Cubano Amarillo, Chandelle, Coastal Tropical Cristalino, Cuban Flint, Maíz Criollo, Tusón, Argentino, Canilla, White Pop, Yellow Pop, White Dent
Chile (29)	Amarillo Malleco, Amarillo Ñuble, Araucano, Capio Chico Chileno, Capio Grande Chileno, Capio Negro Chileno, Camelia, Choclero, Chulpi, Chutucuno Chico, Chutucuno Grande, Cristalino Chileno, Cristalino Norteño, Curagua, Curagua Grande, Dentado Comercial, Diente Caballo, Dulce, Harinoso Tarapaqueño, Limeño, Maíz de Rulo, Marcame, Morocho Blanco, Morocho Amarillo, Negrito Chileno, Ocho Corridas, Pisankalla, Polulo, Semanero
Ecuador (31)	Canguil, Sabanero Ecuatoriano, Cuzco Ecuatoriano, Mishca, Patillo Ecuatoriano, Racimo de Uva, Kcello Ecuatoriano, Chillo, Chulpi Ecuatoriano, Morochón, Huandango, Montaña Ecuatoriano, Blanco Harinoso Dentado, Cónico Dentado, Uchima, Clavito, Pojoso Chico Ecuatoriano, Tusilla, Gallina, Candela, Maíz Cubano, Tuxpeño, Chococeño, Blanco Blandito, Cholito Ecuatoriano, Yunga, Enano Gigante, Yunquillano, Yungueño Ecuatoriano
Guatemala (33)	Criollo, Huesillo, Nal-Tel, Nal-Tel Amarillo, Nal-Tel Amarillo Tierra Baja, Nal-Tel Blanco Tierra Baja, Nal-Tel Amarillo Tierra Alta, Nal-Tel Blanco Tierra Alta, Nal-Tel Ocho, Imbricado; Serrano, San Marceño, Quiché, Quicheño Rojo, Quicheño Grueso, Quicheño Ramoso, Negrita, Negro, Negro Chico, Negro Chimaltenango Tierra Fria, Negro Chimaltenango Tierra Caliente, Salpor, Salpor TARdío, Salvadoreño, San MARceño, Olotillo, Olotón, Comiteco, Dzit Bacal, Tehua, Tepecintle, Tusón, Tuxpeño
El Salvador, Honduras, Costa Rica, Nicaragua, Panamá (11)	Nal Tel Blanco, Nal Tel Amarillo, Nal Tel Rojo, Nal Tel Panamá, Clavillo, Salvadoreño, Negro, Chocoseño, Cariaco, Huesillo, Cubano Amarillo Cristalino
PARaguay (10)	Avatí Mita, Avatí morotí, Avatí Ti, Avatí Guapí, Opaco, Pichinga Redondo, Sape Moroti, Sape Pyta, Tupí Morotí, Tupí Pyta

14 Variables morfométricas y análisis molecular para la identificación de razas colombianas de Maíz (*Zea mays* L.)

Perú (66)	Ajaleado, Alazán, Alemán, Amarillo Huancabamba, Ancashino, Arequipeño, Arizona, Arizona Mochero, Blanco Ayabaca, Cabaña, Capio, Chancayano, Chancayanoamarillo, Chancayano Blanco, Chancayano Pintado, Chaparreo, Chimlos, Chullpi, Chuncho, Colorado, Confite Introducido, Confite Morocho, Confite Puneño, Confite Puntigudo, Coruca, Cubano Amarillo, Cubano Amarillo Piricinco, Cuban Yellow Dent, Cuzco, Cuzco Cristalino Amarillo, Cuzco Gigante, Enano, Granada, Híbrido Amarillo Duro, Huachano, Huancavelicano, Huarmaca, Huayleño, Jora, Kculli, Maraño, Mochero, Mochero Pagaladroga, Morocho Cajabambino, Morocho Canteño, Morocho, Opaco, Pagaladroga, Pardo, Pardo Amarillo, Paro, Perla, Perlilla, Piricinco, Piscorunto, Rabo de Zorro, Rienda, Sabanero, San Gerónimo Huancavelicano, Sarco, ShajATu, San Gerónimo, Tambopateño, Tumbesino, Tuxpeño, Uchuquilla
Uruguay (8)	Cateto Sulino, Cristal, Dentado Branco, Dentado Rugoso, Morotí Amarillo, Morotí Blanco, Pisingallo, Semidentado Rugoso
Estados Unidos (16)	Argentino, Canilla, Cariaco, Chapalote, Confite Morocho, Corn Belt Dent, Creole, Early Caribbean, Haitian White, Northern Flint, Northern Flour, Palomero Toluqueño, Saint Croix, Southern Dent, Tuson, White PopCorn
Venezuela (19)	Aragüito, Cacao, Canilla Venezolano, Cariaco, Chandelle, Chirimito, Común, Costeño, Cuba Amarillo, Guaribero, Huevito, Negrito, Pira, Pollo, Puya, Puya Grande, Sabanero, Tusón, Tuxpeño

El número de razas presentes en cada país, no es un factor directamente proporcional al área, por ejemplo: Estados Unidos, es el país con mayor extensión, pero solo se reportaron un total de 16 razas, por su parte en países como Bolivia y Perú, se reportó 77 y 66 respectivamente, convirtiéndose en los países con mayor diversidad en razas de maíz. En la Figura 3, se presenta la variabilidad en número de razas, en los países de América, de acuerdo a lo reportado por Serratos *et al.*, 2009.

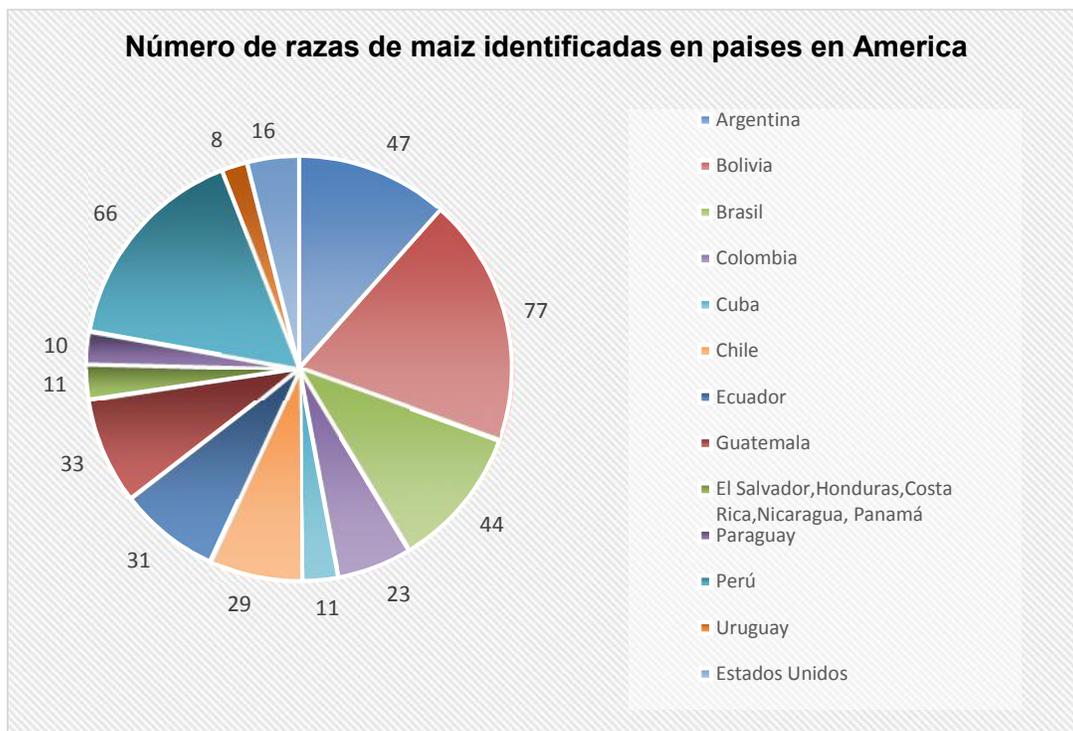


Figura 3. Representación gráfica del número de razas reportadas en cada país para la década de los 50´.

2.2. El maíz en Colombia

El cultivo de maíz, además de su significativa contribución a la economía agrícola, está ligado al entorno cultural, las variedades o híbridos comerciales, así como las poblaciones seleccionadas por los mismos agricultores, se encuentran adaptados a un amplio rango de pisos térmicos y regiones eco geográficas. Esto ha permitido que su utilidad no se limite a un ingrediente en alimentación humana y animal, si no, que además sea la materia prima base para el desarrollo de muchos productos industrializados, tales como la producción de harina y biocombustibles Caetano *et al.*, (2015).

La producción de maíz de Colombia, durante los últimos treinta años ha sufrido un decrecimiento notable, en el año 1988 se cultivaban más de 600 mil hectáreas de

maíz, al año 2016 sólo se sembraron alrededor de 200 mil, distribuidos en 250 municipios de 19 departamentos, es el primer cultivo de ciclo corto, concentrando el 13% del área agrícola y aportando el 7% a la producción agrícola nacional. Las zonas productoras dependen en más de un 60% de esta actividad agrícola como principal fuente económica (AGRONET, 2015; FENALCE, 2016).

En la tabla 2 se presenta la relación de la producción de maíz en Colombia para el primer semestre del año 2016 y las proyecciones para el 2017, se estima una disminución de mil hectáreas del área sembrada, sin embargo, se espera que la producción de maíz amarillo tecnificado, mayor a las 300 mil toneladas. Este comportamiento en la producción, está ligado a dinámicas económicas como la importación de maíz de Estados Unidos y Brasil, que alcanzaron en el año 2010 3 millones de Ton /año, de maíz amarillo y 160 mil Ton /año de maíz blanco (FENALCE, 2016).

Tabla 4. Producción de maíz en Colombia primer semestre de 2016 y proyección 2017 (FENALCE, 2016).

Maíz	Área Sembrada 2016 (ha)	Área Esperada 2017 (ha)	Rendimiento Esperado (Ton/ha)	Producción Esperada 2017 (Ton)	Área Sembrada Febrero 2017 (ha)
Amarillo Tecnificado	60,739	62,819	5,89	369,814	5,316
Amarillo Tradicional	75,157	64,882	1,95	126,299	1,12
Blanco Tradicional	41,469	40,874	2,03	82,972	1,6
Blanco Tecnificado	43,188	42,696	5,41	231,069	2,404
Total	220,553	211,271		810,154	10,44

Colombia es uno de los países que tiene gran diversidad en maíz, expresada en razas y variedades nativas que se encuentran en las diferentes regiones, las cuales están asociadas a las numerosas expresiones culturales de comunidades indígenas, afrocolombianas y campesinas, esto ha permitido la conservación de maíces de diferentes características, muchas de ellas propias de la zona

agroecológica y producto del proceso de selección, que responde básicamente a la forma en la cual se consume (Chávez y Sevilla, 2006; Chiguachi *et al.*, 2010). Las razas de maíz son nombradas a partir de diferentes caracterizaciones morfológicas y usos de la planta, por ejemplo, el maíz “Dulce”, tiene este nombre en Colombia debido a su sabor y la cantidad de azúcar que posee, mientras que, en Perú y Ecuador es llamado “Chulpi”, este nombre es heredado de los indígenas y conservado por grupos indígenas y mestizos que cultivan este tipo de maíces (McClintock, 1981).

Las variedades nativas de maíz pueden agruparse por razas, de acuerdo con sus características morfológicas y fisiológicas, en Colombia hay 23 razas de maíz, agrupadas en tres categorías en relación con su origen probable, además se han definido cuatro factores de evolución que contribuyeron a la formación de dichas razas: aislamiento geográfico, hibridación interracial, hibridación con maíces contaminados con *teocintle* procedentes de México, e hibridación de maíz con su pariente silvestre *Tripsacum* (Revelo *et al.*, 2014). En la figura 4 se muestra la distribución geográfica de razas de maíz en Colombia.

Las razas de maíz en Colombia son un recurso genético indispensable en los programas de mejoramiento genético, aportan características de resistencia a plagas y enfermedades, y expresan mejor adaptabilidad y/o estabilidad, a los genotipos mejorados. No obstante, a partir de los años 60, con el auge de las actividades de mejora genética que se dinamizaron en Colombia, se generó una serie de variedades e híbridos, que originó muchos casos de erosión genética en las razas de maíz, ya que fueron reemplazadas y relegadas a zonas más limitadas (ICA Resolución 3414 de 1991). Como consecuencia a esto, se enfocaron los estudios de colecta de accesiones para conservación y se registró la distribución de maíces en dos grandes grupos geográficos en el país, clasificando las razas de maíz en dos: Los maíces de tierras bajas (MTB) que comprenden todas las colectas realizadas desde 0 hasta 1800 msnm y los maíces de tierras altas (MTA), colectas realizadas de 1801 msnm en adelante (Caetano *et al.*, 2014).

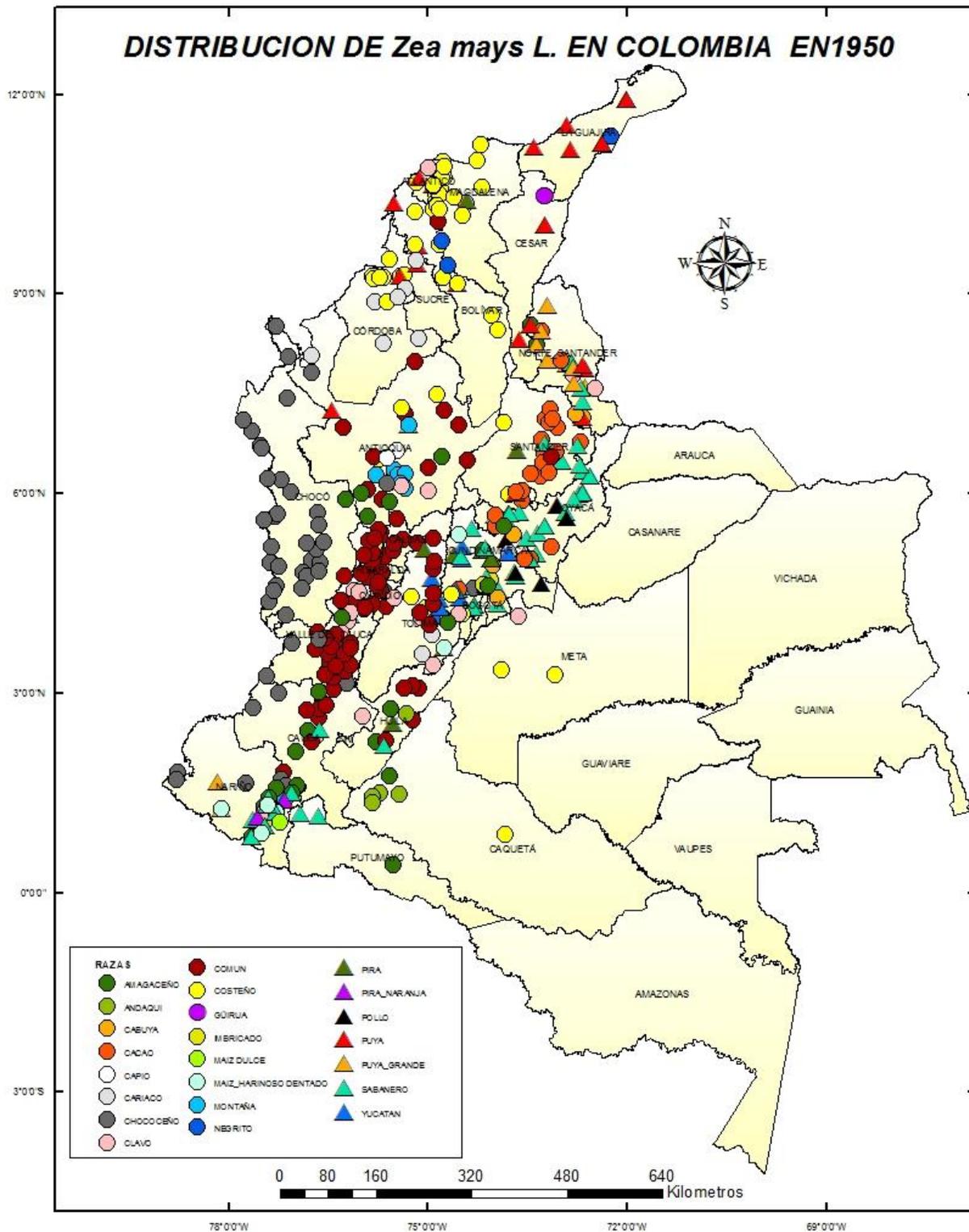


Figura 4. Distribución geográfica en Colombia de razas de maíz según los resultados reportados por Roberts *et al.*, (1957).

Los maíces de tierras altas (MTA) en Colombia, se ubican en la cordillera de los Andes, que cuenta con tres ramales principales oriental, central y occidental. Esta región, junto con la región Inter andina, cubre una superficie de 350.000 km² y presenta una gran variación de climas que incluyen desde zonas cálidas con 29 °C de temperatura media, hasta zonas de nieves perpetuas (Paramos). Los maíces cultivados en estas zonas se adaptan a una altura en promedio de 3.000 msnm. Estos además, se siembran en diferentes tipos de pendientes: desde onduladas o empinadas, en las laderas de las montañas hasta mesetas altas en algunas partes como la Sabana de Bogotá y los altiplanos de Antioquia, Boyacá y Nariño. (Espinal y Sigifredo, 1985; Muñoz y Martínez, 2009)

En cuanto a los maíces de tierras bajas (MTB), se cultivan en las planicies de la Orinoquía parte de la Amazonía y costa atlántica y pacífica, son adaptados a condiciones donde predomina clima tropical húmedo, alta pluviosidad, su extensión comprende los departamentos de Putumayo, Nariño, Cauca, Valle del Cauca, Chocó, Antioquia, Córdoba, Sucre, Bolívar, Magdalena, Cesar y La Guajira piazzinis *et al.*, (2015.)

La utilización directa de las razas de maíz que existen, queda actualmente restringida a áreas poco desarrolladas técnicamente, o zonas con agricultura de pequeñas extensiones y a regiones en las cuales no se han adaptado totalmente las nuevas variedades obtenidas mediante mejora genética, por ello estudios de recolección de esos materiales, no permiten la desaparición definitiva de la variabilidad disponible.

2.3. Análisis de la diversidad de maíces criollos: Morfometría y técnicas moleculares

La utilización eficiente de germoplasma requiere una caracterización y posterior evaluación del mismo, estas evaluaciones deben hacerse en dos pasos: El primero es una evaluación preliminar que reduce el estudio a un número limitado de caracteres y a continuación una segunda evaluación, más específica de las accesiones que presenten características de mayor potencial (Agronómico, de calidad, etc.), las herramientas más importantes para estas evaluaciones están integradas por las variables morfométricas, los análisis moleculares y las evaluaciones ambientales (Caetano *et al.*, 2014).

La RAE (Real Academia Española) define la morfometría como el estudio científico de la forma y dimensiones de algo, sin embargo, la definición de Pedraza Gilsanz (1996) es más acertada para este caso, ya que la define como el Conjunto de técnicas, procedimientos y métodos utilizados para determinar atributos y en base a ellos conocer el sistema de relaciones que permiten la caracterización.

La morfometría entonces, es una herramienta de fácil aplicación por personal entrenado, bajo costo, y que además presenta un gran potencial para la exploración de la diversidad de las especies (Cazorla, 2009). Dado que las características agronómicas y el ambiente han influenciado la constitución genotípica de las razas de maíz durante su domesticación, los estudios morfológicos cuantitativos han sido de utilidad para esclarecer problemas taxonómicos, diferenciar poblaciones e incluso hasta niveles de ploidía (Couto *et al.*, 2013; Rodríguez *et al.*, 2016).

Por su parte las técnicas moleculares que aporta la Biotecnología Vegetal y la Ingeniería genética, ha contribuido a la revalorización de los recursos genéticos, que se han visto beneficiados por los estudios recientes. El uso de marcadores

moleculares ha permitido caracterizar la diversidad en materiales mejorados, complejos genéticos, variedades de polinización abierta y materiales nativos.

La generalización de las técnicas de biología molecular ha permitido el desarrollo de una poderosa herramienta de uso general para el análisis genético y para obtener una visión más detallada de la variación genética y su distribución a distintos niveles, los avances generados, han tenido repercusiones en países en vía de desarrollo, al ofrecer grandes esperanzas para mejorar la situación alimentaria mundial (FAO, 2016).

En maíz concurren varias investigaciones donde el uso de herramientas biotecnológicas ha sido exitoso, desde la evaluación de accesiones en los bancos de germoplasma, hasta la obtención de cultivares transgénicos. (Becerra y Paredes, 2000). Una de las herramientas en biología molecular son los marcadores moleculares, estos 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 *et al.*, 2008).

Un marcador molecular ideal es aquel que es altamente polimórfico, codominante, preciso, reproducible y de bajo costo (Hedrick PW *et al.*, 2005). La dominancia de un marcador ofrece una ventaja frente a los otros marcadores porque permite distinguir individuos homocigotos de heterocigotos (Kosman *et al.*, 2005). Entre los diversos tipos de marcadores están cpADN (marcadores cloroplásticos), SSR (Secuencias simples repetidas ó microsatelites) y marcadores tipo RAM (micro satélites amplificados al azar).

ADN cloroplástico (cpADN)

El genoma cloroplástico, también llamado ADN cloroplástico, es el material genético de los cloroplastos, los orgánulos citoplasmáticos característicos de los organismos autótrofos fotosintéticos, tales como las plantas y las algas verdes.

Este cpADN se duplica semi-autónomamente cuando la célula eucariota se divide. Los cloroplastos eucarióticos derivan evolutivamente de las cianobacterias (Revelo *et al.*, 2014).

En los organismos fotosintéticos existe un ADN típicamente bacteriano circular, de 120 a 200 kb (Marchal y Brown *et al.*, 1975), con intrones y exones que se considera muy conservado, ya que se trata fundamentalmente del mismo genoma desde las hepáticas hasta las plantas superiores. Cada cloroplasto contiene varias regiones nucleotídicas, cada una con 8 a 10 moléculas de ADN. Un organismo unicelular como *Euglena* puede contener de 40 a 50 cloroplastos, por lo que la célula entera puede contener más de 500 copias del genoma del cloroplasto (Stansfield *et al.*, 1992).

Marcadores microsatélites o secuencias simples repetidas tipo SSR

Son secuencias de ADN formadas por repetición en serie de 1 a 6 pares de bases, por ejemplo mononucleótidos (TT)_n, dinucleótidos (AT)_n, o tetranucleótidos (AAGG)_n. Estos *loci* se encuentran en regiones codificantes y no codificantes del ADN y es probable que se formen por eventos de rompimiento que generan polimorfismos con valores superiores al 90% (Armour *et al.*, 1994; Coltman *et al.*, 1996; Gupta *et al.*, 1996).

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 microsatélites 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)

Lia (2004) describió la diversidad genética de razas de maíz en Argentina, los resultados del estudio permitieron concluir que: 1) Las razas se encuentran constituidas por acervos génicos diferentes, que concuerdan con el tipo de grano que poseen, es decir, harinosos/córneo-harinosos y reventadores, grupos que deberían ser considerados como unidades de conservación diferentes; y 2) las razas consideradas nativas, constituyen una reserva de diversidad significativa, con potencial para ampliar la base genética de los programas de fitomejoramiento.

Marcadores tipo RAMs

Los marcadores tipo RAM permiten estimar la diversidad genética de las especies de forma rápida (Doebley *et al.*, 1984), esta técnica es propuesta por (Zietkiewicz *et al.*, 1994) como un método apropiado para medir diversidad genética en plantas y animales.

Esta técnica combina los beneficios de los microsatélites y los RAPD (La amplificación aleatoria de ADN polimórfico) basándose en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), este método es reproducible y permite la detección de polimorfismo en el ADN intra e interespecífico. La técnica RAM se ha utilizado con éxito en muchas especies vegetales (Hantula *et al.*, 1996).

3. Materiales y Métodos

3.1. Localización

El proyecto se desarrolló en dos localidades, debido a que la colección evaluada cuenta con accesiones colectadas a diferentes alturas, se dividió en dos grandes grupos: Maíz de tierras bajas (MTB) que corresponde a colectas hasta 1.800 m.s.n.m. y Maíz de tierras altas (MTA) de 1.801msnm en adelante.

Los maíces MTB, se realizó en el Centro de investigación Universidad Nacional de Colombia CEUNP, ubicado en la finca Los Arreboles, corregimiento El Carmelo, municipio de Candelaria, departamento del Valle del Cauca, Colombia, Altitud de 980 m.s.n.m, 69% de humedad relativa, climatológicamente clasificado como bosque húmedo tropical.

Los MTA se realizó en la Vereda San Félix, municipio de Sibundoy, Putumayo. Altitud 2096 m.s.n.m.; temperatura promedio de 16°C; humedad relativa del 84%; precipitación anual promedio de 1500 mm; enmarcado en una zona de vida de Bosque Muy Húmedo.

Los análisis de diversidad genética se realizaron en el laboratorio de Biología molecular de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira.

3.2. Material biológico (Evaluación en Campo)

Se evaluaron 164 accesiones de maíz adaptadas a tierras bajas (MTB) que están conformadas por dos colecciones: 51 accesiones que fueron repatriadas del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) (Tabla 5) y la segunda colección de 113 accesiones colectadas por el Grupo de Investigación en Recursos Fitogenéticos Neotropicales (GIRFIN) y el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) (

Tabla 6). Dichos materiales conforman la colección GIRFIN-ICA.

Para su identificación se incluye un código de la accesión así: ZmCunCol006

Zm: *Zea mays*

Cun: Departamento (Cundinamarca)

Col: País de colecta_(Colombia)

006: Número de la entrada.

En el caso de las accesiones repatriadas de CIMMYT el código tiene las iniciales CIM así: ZmColCIM3108.

Tabla 5. Accesiones repatriadas del Banco de Germoplasma de CIMMYT

Accesión		Accesión		Accesión		Accesión	
1	ZmColCIM20491	14	ZmColCIM3129	27	ZmColCIM3177	40	ZmColCIM3206
2	ZmColCIM20524	15	ZmColCIM3130	28	ZmColCIM3185	41	ZmColCIM3207
3	ZmColCIM20559	16	ZmColCIM3132	29	ZmColCIM3190	42	ZmColCIM3208
4	ZmColCIM20566	17	ZmColCIM3149	30	ZmColCIM3191	43	ZmColCIM3209
5	ZmColCIM20570	18	ZmColCIM3164	31	ZmColCIM3192	44	ZmColCIM3213
6	ZmColCIM20583	19	ZmColCIM3165	32	ZmColCIM3193	45	ZmColCIM3214
7	ZmColCIM20587	20	ZmColCIM3168	33	ZmColCIM3194	46	ZmColCIM3215
8	ZmColCIM21602	21	ZmColCIM3169	34	ZmColCIM3195	47	ZmColCIM3217
9	ZmColCIM21636	22	ZmColCIM3170	35	ZmColCIM3196	48	ZmColCIM3219
10	ZmColCIM22766	23	ZmColCIM3172	36	ZmColCIM3199	49	ZmColCIM4193
11	ZmColCIM3112	24	ZmColCIM3173	37	ZmColCIM3202	50	ZmColCIM7903
12	ZmColCIM3121	25	ZmColCIM3175	38	ZmColCIM3203	51	ZmColCIM3131

28 Variables morfométricas y análisis molecular para la identificación de razas colombianas de Maíz (*Zea mays* L.)

13 ZmColCIM3125 26 ZmColCIM3176 39 ZmColCIM3205

Tabla 6. Accesiones de maíz de la colección de Tierras bajas (MTB) de la colección biológica de GIRFIN - ICA, Sede Palmira.

Accesión	Accesión	Accesión	Accesión
1 ZmAntCol002	30 ZmCauCol003	59 ZmCunCol014	88 ZmPutCol016
2 ZmAntCol003	31 ZmCauCol004	60 ZmCunCol015	89 ZmPutCol017
3 ZmARaCol001	32 ZmCauCol006	61 ZmCunCol017	90 ZmPutCol018
4 ZmARaCol002	33 ZmCauCol009	62 ZmGuaCol001	91 ZmPutCol019
5 ZmARaCol003	34 ZmCesCol001	63 ZmGuaCol002	92 ZmPutCol020
6 ZmATICol001	35 ZmCesCol002	64 ZmGuaCol003	93 ZmPutCol021
7 ZmATICol002	36 ZmCesCol003	65 ZmHuiCol001	94 ZmSanCol001
8 ZmATICol003	37 ZmCesCol004	66 ZmHuiCol002	95 ZmSanCol002
9 ZmATICol004	38 ZmCesCol005	67 ZmHuiCol003	96 ZmSanCol003
10 ZmATICol005	39 ZmCesCol006	68 ZmHuiCol004	97 ZmSucCol001
11 ZmBolCol001	40 ZmChoCol001	69 ZmHuiCol005	98 ZmSucCol002
12 ZmBolCol002	41 ZmChoCol002	70 ZmHuiCol006	99 ZmTolCol001
13 ZmBolCol003	42 ZmChoCol003	71 ZmMagCol001	100 ZmTolCol002

14	ZmBolCol005	43	ZmChoCol004	72	ZmMagCol002	101	ZmTolCol003
15	ZmBolCol006	44	ZmCorCol001	73	ZmMagCol003	102	ZmTolCol004
16	ZmBolCol007	45	ZmCorCol002	74	ZmMagCol004	103	ZmTolCol005
17	ZmBoyCol001	46	ZmCorCol003	75	ZmMagCol005	104	ZmTolCol006
18	ZmBoyCol002	47	ZmCorCol004	76	ZmMagCol006	105	ZmTolCol007
19	ZmBoyCol010	48	ZmCorCol005	77	ZmNdSCol004	106	ZmValCol004
20	ZmBoyCol011	49	ZmCorCol006	78	ZmNdSCol005	107	ZmValCol005
21	ZmBoyCol012	50	ZmCorCol007	79	ZmNdSCol006	108	ZmValCol006
22	ZmBoyCol013	51	ZmCorCol009	80	ZmNdSCol011	109	ZmValCol007
23	ZmBoyCol014	52	ZmCorCol010	81	ZmNdSCol012	110	ZmValCol008
24	ZmBoyCol015	53	ZmCorCol011	82	ZmNdSCol013	111	ZmValCol009
25	ZmBoyCol016	54	ZmCunCol003	83	ZmNdSCol014	112	ZmValCol013
26	ZmCalCol001	55	ZmCunCol004	84	ZmNdSCol015	113	ZmValCol014
27	ZmCalCol002	56	ZmCunCol010	85	ZmNdSCol016		
28	ZmCalCol003	57	ZmCunCol011	86	ZmNdSCol017		
29	ZmCauCol002	58	ZmCunCol013	87	ZmPutCol015		

La otra colección corresponde a accesiones de maíz de tierras altas (MTA) se realizó con 60 accesiones de maíz, 14 de las cuales corresponden a accesiones repatriadas de CIMMYT y las 46 restantes, a colectas GIRFIN-ICA (**¡Error! La autoreferencia al marcador no es válida.**).

Tabla 7. Accesiones de maíz de la colección de Tierras altas (MTA) de la colección biológica de GIRFIN - UNAL, Sede Palmira.

Accesión	Accesión	Accesión	Accesión
1 ZmAntCol001	16 ZmColCIM3153	31 ZmCunCol009	46 ZmPutCol006
2 ZmAntCol004	17 ZmColCIM3118	32 ZmNARCol005	47 ZmPutCol007
3 ZmAntCol005	18 ZmColCIM3140	33 ZmNARCol006	48 ZmPutCol008
4 ZmAntCol006	19 ZmColCIM3127	34 ZmNARCol008	49 ZmPutCol009
5 ZmAntCol007	20 ZmColCIM3157	35 ZmNARCol009	50 ZmPutCol010
6 ZmBoyCol004	21 ZmColCIM3155	36 ZmNARCol010	51 ZmPutCol011
7 ZmBoyCol005	22 ZmColCIM3156	37 ZmNARCol012	52 ZmPutCol012
8 ZmBoyCol006	23 ZmColCIM3113	38 ZmNdSCol002	53 ZmPutCol013
9 ZmBoyCol007	24 ZmColCIM3105	39 ZmNdSCol003	54 ZmPutCol014
10 ZmBoyCol009	25 ZmColCIM3106	40 ZmNdSCol007	55 ZmTolCol008
11 ZmCauCol001	26 ZmColCIM3187	41 ZmPutCol001	56 ZmTolCol009
12 ZmCauCol005	27 ZmCunCol001	42 ZmPutCol002	57 ZmValCol001
13 ZmColCIM3171	28 ZmCunCol002	43 ZmPutCol003	58 ZmValCol002
14 ZmColCIM3108	29 ZmCunCol005	44 ZmPutCol004	59 ZmValCol003
15 ZmColCIM3166	30 ZmCunCol006	45 ZmPutCol005	60 ZmValCol010

Material biológico (Evaluación en Laboratorio)

Para el análisis en laboratorio se conformaron grupos de accesiones representativas de las razas de maíces, por lo cual se distribuyeron así:

Se evaluaron 23 accesiones repatriadas de CIMMYT las cuales corresponden a una accesión para cada raza para el análisis a partir de cpADN (marcadores ADN cloroplástico, Tabla 8). 65 accesiones de CIMMYT y 78 accesiones de la colección GIRFIN-ICA evaluadas con Marcadores RAM (Tabla 9). Y un total de 7 accesiones de la colección GIRFIN-ICA y 18 de la Colección CIMMYT para el análisis con Microsatélites SSR (Tabla 10).

Tabla 8. Accesiones evaluadas por marcadores ADN Cloroplastico (Revelo, 2014).

Código	Raza	Código	Raza
ZmColCIM20524	Andaquí	ZmColCIM3164	Amagaceño
ZmColCIM20559	Clavo	ZmColCIM3172	Común
ZmColCIM20566	Yucatán	ZmColCIM3185	Cacao
ZmColCIM21636	Harinoso	ZmColCIM3187	Sabanero
ZmColCIM3108	Pira	ZmColCIM3194	Costeño
ZmColCIM3112	Pira Naranja	ZmColCIM3199	Negrito
ZmColCIM3121	Güirúa	ZmColCIM3203	Puya
ZmColCIM3127	Maíz dulce	ZmColCIM3208	Puyagrande
ZmColCIM3131	Cariaco	ZmColCIM3219	Chococeño
ZmColCIM3140	Imbricado	ZmcolCim3106	Pollo
ZmColCIM3153	Cabuya	ZmColPut007	Maíz Capio
ZmColCIM3155	Montaña		

32 Variables morfométricas y análisis molecular para la identificación de razas colombianas de Maíz (*Zea mays* L.)

Tabla 9. Accesiones evaluadas por marcadores RAM (Rojas, 2014).

consecutivo	Código entrada	Altitud (m.s.n.m)	consecutivo	Código entrada	Altitud (m.s.n.m)	consecutivo	Código entrada	Altitud (m.s.n.m)
1	ZmCauCol002	1719	27	ZmCunCol008	2575	53	ZmNdSCol016	1609
2	ZmCauCol003	1505	28	ZmCunCol009	2592	54	ZmNdSCol017	1201
3	ZmCauCol005	1802	29	ZmCunCol010	1676	55	ZmPutCol002	2142
4	ZmCauCol006	1350	30	ZmCunCol011	1663	56	ZmPutCol008	2096
5	ZmCauCol009	1350	31	ZmCunCol013	1025	57	ZmPutCol012	2137
6	ZmCesCol001	115	32	ZmGuaCol001	14	58	ZmSanCol001	1312
7	ZmCesCol003	96	33	ZmGuaCol003	42	59	ZmSanCol003	1323
8	ZmCesCol004	54	34	ZmHuiCol001	1450	60	ZmSucCol001	22
9	ZmCesCol006	54	35	ZmHuiCol002	1450	61	ZmSucCol002	22
10	ZmChoCol001	28	36	ZmHuiCol005	1359	62	ZmTolCol001	376
11	ZmChoCol002	25	37	ZmHuiCol006	1368	63	ZmTolCol002	389
12	ZmCorCol002	67	38	ZmMagCol002	49	64	ZmTolCol003	644
13	ZmCorCol003	63	39	ZmMagCol003	62	65	ZmTolCol006	321
14	ZmCorCol004	117	40	ZmMagCol004	62	66	ZmTolCol007	325
15	ZmCorCol006	98	41	ZmMagCol005	62	67	ZmTolCol008	2150
16	ZmCorCol007	98	42	ZmMagCol006	65	68	ZmTolCol009	2150
17	ZmCorCol008	33	43	ZmNARCol010	1959	69	ZmValCol001	1945
18	ZmCorCol009	22	44	ZmNARCol011	2488	70	ZmValCol002	1945
19	ZmCorCol010	35	45	ZmNdSCol003	2097	71	ZmValCol003	1945
20	ZmCorCol011	35	46	ZmNdSCol004	1564	72	ZmValCol004	1727
21	ZmCunCol001	2143	47	ZmNdSCol006	1693	73	ZmValCol005	1727
22	ZmCunCol002	1984	48	ZmNdSCol007	1869	74	ZmValCol006	1639
23	ZmCunCol004	1765	49	ZmNdSCol011	1579	75	ZmValCol007	1639
24	ZmCunCol005	2252	50	ZmNdSCol012	1593	76	ZmValCol009	1476
25	ZmCunCol006	2079	51	ZmNdSCol013	861	77	ZmValCol010	1875
26	ZmCunCol007	2559	52	ZmNdSCol014	857	78	ZmValCol013	27

Tabla 10. Accesiones evaluadas por marcadores SSR (Jiménez, 2014).

Código entrada	Altitud (m.s.n.m)	Código entrada	Altitud (m.s.n.m)	Código entrada	Altitud (m.s.n.m)
ZmColCIM3199	8	ZmColCIM3195	18	ZmColCIM3169	869
ZmColCIM7903	14	ZmColCIM3194	9	ZmColCIM3173	1256
ZmColCIM3205	1430	ZmColCIM3193	22	ZmColCIM3171	1867
ZmColCIM3206	1502	ZmColCIM3192	84	ZmColCIM3172	1043
ZmColCIM3207	978	ZmColCIM3165	1687	ZmColCIM3108	2377
ZmColCIM3209	1351	ZmColCIM3164	1609	ZmColCIM3166	2209
ZmColCIM3208	796	ZmColCIM20570	435	ZmColCIM20587	1700
ZmColCIM20524	185	ZmColCIM20566	387	ZmColCIM3153	2378
ZmColCIM20491	300	ZmColCIM3185	1251	ZmColCIM3118	1901
ZmColCIM3129	56	ZmColCIM20583	316	ZmColCIM3140	2000
ZmColCIM3132	53	ZmColCIM20559	435	ZmColCIM3127	2515
ZmColCIM3131	17	ZmColCIM3125	1397	ZmColCIM3157	2110
ZmColCIM3130	17	ZmColCIM3121	1397	ZmColCIM3155	2144
ZmColCIM3214	33	ZmColCIM3203	125	ZmColCIM3156	2144
ZmColCIM3213	3	ZmColCIM3202	42	ZmColCIM3112	1646
ZmColCIM4193	91	ZmColCIM21636	1549	ZmColCIM3113	2182
ZmColCIM3219	37	ZmColCIM21602	1700	ZmColCIM3105	2570
ZmColCIM3217	19	ZmColCIM3177	1494	ZmColCIM3106	2570
ZmColCIM3215	89	ZmColCIM3176	1518	ZmColCIM3149	1699
ZmColCIM3191	20	ZmColCIM3175	1559	ZmColCIM3187	2709
ZmColCIM3196	9	ZmColCIM3168	896	ZmColCIM22766	1735
ZmColCIM3190	30	ZmColCIM3170	1632		

3.3. Evaluación en campo

En el segundo semestre del 2012 se realizó el primer ensayo en el Centro experimental CEUNP se sembró la colección de maíces de tierras bajas (MTB), se realizó bajo un diseño *Lattice* con un arreglo de 6x15 con dos repeticiones y un testigo comercial SOMMA de Syngenta.

El área total usada en la siembra fue de 5443 m², distribuidos en 15 bloques, cada uno de 5 metros y calles de 1 metro. Cada accesión contó con dos parcelas que fueron aleatorizadas, cada parcela estuvo constituida por 3 surcos y la parcela central se usó como unidad experimental efectiva.

En el primer semestre de 2013 se realizó el segundo ensayo experimental, se sembró las accesiones de maíces de tierras altas (MTA), en la Vereda San Félix, municipio de Sibundoy, Putumayo. El diseño experimental utilizado fue bloques completos al azar, cada accesión se sembró en dos parcelas que fueron puestas de forma aleatoria, cada parcela estuvo constituida por 3 surcos y la parcela central se usó como unidad experimental efectiva. En la figura 5, se muestra la representación gráfica de la parcela experimental.

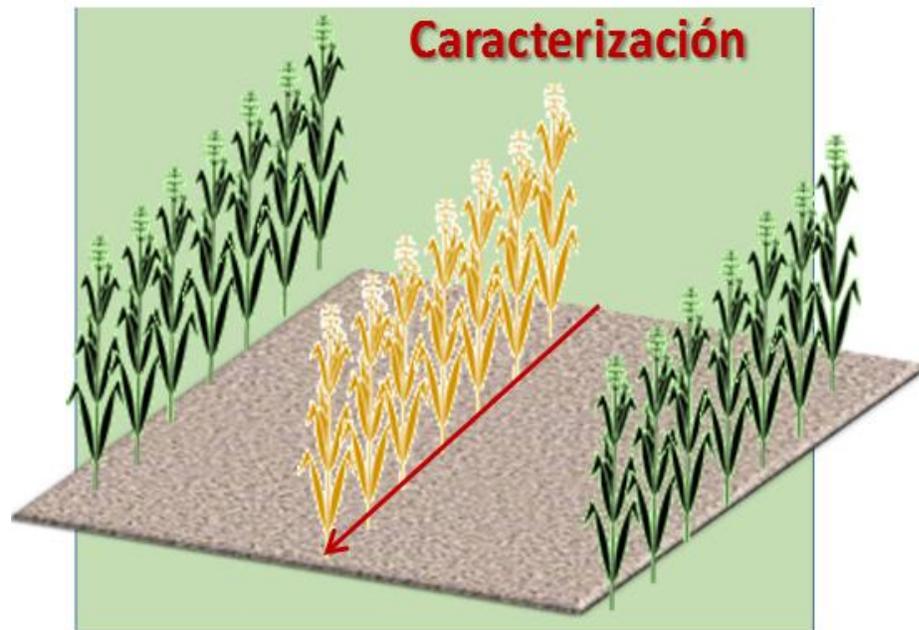


Figura 5. Representación de parcela experimental y estadística.

Cada ensayo, incluyo una etapa de polinización para hacer el incremento de semilla de las accesiones de maíz que conforman la colección. El método de polinización consistió en hacer una mezcla de polen de algunos individuos (progenitores masculinos) y llevarlos a los estigmas de la mazorca (progenitor femenino) (Figura 6).



Figura 6. Embolsado de la espiga para recolección de polen y englacinado de flores femeninas (Foto: GIRFIN 2013)

Variables morfométricas y morfológicas

Las variables evaluadas correspondieron a los descriptores tomados en la caracterización de maíces de CIMMYT y IBPGR (1991) y los reportados por Wellhausen *et al.*, (1951), en la tabla 11 se muestran las variables tomadas.

Tabla 11. Variables morfométricas y morfológicas evaluadas en las accesiones de maíces criollos Colección CIMMYT y GIRFI-ICA.

ID	NOMBRE O VARIABLE	UNIDAD	ID	NOMBRE O VARIABLE	UNIDAD
APL	Altura de la planta	cm	CGR2	Color del grano 2 (medianamente predominante)	
AMZ	Altura de la mazorca	cm	CGR3	Color del grano 3 (poca predominancia)	
DMAX	Diámetro del tallo máximo	mm	PGR	Peso de 100 granos a una humedad del 10%	g
DMIN	Diámetro del tallo mínimo	mm	DP	Diámetro del pedúnculo de la mazorca	mm
HT	N° total de hojas por planta	un	LP	Longitud el pedúnculo de la mazorca	cm
HSMZ	N° de hojas Arriba de la mazorca por planta	un	BRACT	N° de brácteas de la mazorca	un
HLON	Longitud de la hoja	cm	LGRAN	Promedio de la longitud del grano	mm
HANC	Ancho de la hoja	cm	AGRA	Promedio del ancho del grano	mm
HVEN	Venación		GGRA	Promedio del grosor del grano	mm
HIND	Índice de venación		FSG	Forma de la superficie del grano	
HPUB	Pubescencia de la vaina foliar:		TGRA	Tipo de grano 1 (mas predominante)	
HORI	Orientación de las hojas:		PER1	Color del pericarpio 1 (mas predominante)	
MAC	N° de Macollas	un	PER2	Color del pericarpio 2(menos predominante)	
NEN	N° de entrenudos	un	ALE1	Color aleurona 1 (mas predominante)	
CTLL	Color del tallo		ALE2	Color aleurona 2 (menos predominante)	
AR	Acame de raíz		END1	Color del endospermo 1 (mas predominante)	
AT	Acame de tallo		END2	Color del endospermo 2 (menos predominante)	
MZPL	N° de mazorcas por planta	un	TPGRA	Tipo de grano 2 (menos predominante)	
FASC	Fascinación		PER11	Color del pericarpio 11 (mas predominante)	
LESP	Longitud de la espiga	cm	PER22	Color del pericarpio 22 (menos predominante)	
LPED	Longitud del pedúnculo de la espiga	cm	ALE11	Color aleurona 11 (mas predominante)	
LPR	Longitud de la partes ramificada de la espiga	cm	ALE22	Color aleurona 22 (menos predominante)	
PPR	Porcentaje de la parte ramificada de la espiga	%	END11	Color del endospermo 11 (mas predominante)	
RP	N° de ramificaciones primarias	un	END22	Color del endospermo 22 (menos predominante)	
RS	N° de ramificaciones secundarias	un	DMZ2	Diámetro medio de la mazorca	mm
RT	N° de ramificaciones terciarias	un	DTU	Diámetro de la tusa	mm
TR	N° total de ramificaciones	un	DRAQ	Diámetro del raquis	mm
PRS	Porcentaje de ramificaciones secundarias	%	LRAQ	Longitud de la raquilla	mm
PRT	Porcentaje de ramificaciones terciarias	%	ITURAQ	Índice tusa/raquis	
DBAS	Diámetro de la base de la mazorca	mm	IGLUGRAN	Índice gluma/grano	
DAPIC	Diámetro del apice de la mazorca	mm	ILRAQLGRAN	Índice raquilla/grano	
LM	Longitud de la mazorca	cm	CRA	Color del raquis	
DMED	Diámetro de la mazorca	mm	CGLU	Color de gluma	
FMZCAL	Forma de la mazorca		CTU	Color de tusa	
HGRAN	N° de hileras de granos		CMED	Color de la medula	
DHG	Disposición de hileras de granos		CMA	Cobertura de la mazorca	
TIG	Tipo de grano		DPUD	Daños por pudrición	
CGR1	Color del grano 1 (mas predominante)				

La toma de datos y evaluación se realizaron a inicios de la floración hasta dos semanas antes de la cosecha. Para su análisis estadístico se realizó un análisis de varianza usando el paquete SAS 9.2. Posteriormente un análisis descriptivo para exploración de varianzas. Luego se realizó un análisis de los componentes principales (ACP) y se generó un dendrograma de agrupación, utilizando la mínima varianza de Ward. Se estimó el coeficiente de correlación (r) como medida de distancia entre pares de variables.

3.4. Análisis en laboratorio

Extracción de ADN

La extracción se realizó mediante el método de Doyle & Doyle (1987) modificado por CIMMYT (1996), que permitió extraer ADN de buena calidad, con una concentración promedio de 50ng/μl en todas las accesiones evaluadas.

Cuantificación del ADN

Para evaluar la cantidad y calidad del ADN se prepararon geles de agarosa al 0,8% corridos en tampón TBE 0.5X (Tris-borato 0.045M; EDTA 0.001M) y teñidos con bromuro de etidio a una concentración final de 0.5 ng/ml. Las concentraciones se determinaron por comparación de concentraciones de ADN del bacteriófago Lambda a 30, 60 y 90 ng/μl. Se efectuó una base de datos computarizada donde se registró la mayor cantidad de información disponible.

Análisis de Diversidad con Marcadores cpADN

Se utilizó 14 cebadores de los cuales 10 ya se encontraban reportados para maíz, al realizar la evaluación a nivel de marcadores moleculares, la región genómica ATpB-1-RbcL-1, de origen cloroplástica. En la tabla 12 se reportan los cebadores utilizados.

Tabla 12. Cebadores utilizados en los análisis de cpADN, identificados para diversidad genética de maíz.

Orden	Cebadores	Secuencia (5' a 3')	Fuente
1	rpS16x2F2 trnK(UUU)	AAA GTG GGT TTT TAT GAT CC TTA AAA GCC GAG TAC TCT ACC	Shaw <i>et al.</i> 2007
2	psbA3'f trnHf	GTTATGCATGAACGTAATGCTC CGCGCATGGTGGATTACAATCC	Kress <i>et al.</i> 2005
3	trnL(UAG) rpL32-F	CTG CTT CCT AAG AGC AGC GT CAG TTC CAA AAA AAC GTA	Shaw <i>et al.</i> 2007
4	rbcLa_rev rbcLa_for	GTA AAA TCA AGT CCA CCY CG ATG TCA CCA CAA ACA GAG ACT AAA GC	Kress <i>et al.</i> 2005
5	ITS4 ITS5A	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC CCT TAT CAT TTA GAG GAA GGA G	Whithe <i>et al.</i> 1990
6	Adhc-P1 Adhc-P2	CTGCKGKGCATGGGARGCAGGGAAGCC GCA CAG CCA CAC CCC AAC CCT G	Small <i>et al.</i> 1998
7	GPDX7F 3 GPDX9R 3	GATAGATTTGGAATTGTTGAGG AAGCAATTCCAGCCTTGG	Strand <i>et al.</i> 1997
8	trnQ(UUG) rpS16x1	GCG TGG CCA AGY GGT AAG GC GTT GCT TTY TAC CAC ATC GTT T	Shaw <i>et al.</i> 2007
9	TabC TabF	AAT TAG CGA CGG ACG CTA CG ATT ACT TGA GCA AG ACG GGT	Taberlet <i>et al.</i> (1991)
10	rpL32-R: ndhF:	CCA ATA TCC CTT YYT TTT CCA A GAA AGG TAT KAT CCA YGM ATA TT	Shaw <i>et al.</i> 2007
11	nad1-BF2 nad1-BF3	GGAGGCAAGAACCATGCTTTCA GAAAGGGCTGTAGGTGATGGTG	
12	trnG2G-F trnG-R	GCG GGTATA GTT TAG TGG TAA AA GTA GCG GGA ATC GAA CCC GCA TC	
13	atpB-1: rbcL-1	ACATCKARTACKGGACCAATAA AACACCAGCTTTAATCCAA	
14	TabE TabF	GGT TCA AGT CCC TCT ATC CC ATT ACT TGA GCA AG ACG GGT	

Análisis de Diversidad con Marcadores RAM

Se utilizaron un total 6 cebadores RAM previamente utilizados y reportados en estudios de diversidad. Las secuencias para los cebadores se describen en la tabla 13.

Tabla 13. Cebadores utilizados en la caracterización molecular para determinar la variabilidad genética de las accesiones de maíz colección GIRFIN-ICA.

Número	Cebador	Secuencia
1	CT	DBDCTCTCTCTCTCTC
2	CGA	DHBCGACGACGACGACGA
3	CA	DBDACACACACACACACA
4	AG	HBHAGAGAGAGAGAGAGAG
5	CCA	DDBCCACCACCACCA
6	ACA	BDBACAACAACAACAACA

Análisis de Diversidad con Marcadores SSR

Se utilizaron 10 cebadores en total los cuales han sido reportados por su alto nivel de polimorfismo en maíz. Los cebadores usados se presentan en la tabla 14.

Tabla 14. Cebadores SSR empleados para determinar polimorfismo en razas de maíces colombianos.

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

Los parámetros moleculares analizados en cada uno de los estudios de diversidad:

- Diversidad haplotípica y número de sitios polimórficos (cpADN)
- Heterocigosidad, porcentaje de *loci* polimórficos e Índice de Nei (RAM)
- Número promedio de alelos, riqueza alélica, Heterocigosidad e Índice de Fijación (Microsatélites SSR)

4. Resultados y Discusión

4.1 Análisis descriptivo

Se realizó un análisis descriptivo exploratorio para todos los caracteres evaluados en la colecciones CYMMIT, GIRFIN-ICA. Y para cada grupo: Maíces de Tierras Bajas (MTB) y Maíces de Tierras Altas (MTA), los resultados se muestran en la tabla 15 y 16 respectivamente.

En general todos los caracteres presentaron una alta variabilidad asociada a la diversidad propia de las accesiones evaluadas. Los coeficientes de variación más altos se presentaron en los caracteres: Altura de la planta (APL), Número de macollas (MAC), Acame de raíz (AR) y Acame de tallo (AT). La alta variación para estos caracteres permite deducir que ellos tienen una contribución significativa para explicar la diversidad de las accesiones de maíces colectadas.

42 Variables morfométricas y análisis molecular para la identificación de razas colombianas de Maíz (*Zea mays* L.)

Tabla 15. Análisis descriptivo para las variables cuantitativas evaluadas Maíces Tierras Bajas (MTB).

Variable		Media	CV (%)
APL	Altura de la planta	239,26	190,88
AMZ	Altura de la mazorca	149,9	27,57
DMAX	Diámetro del tallo máximo	22,67	21,78
DMIN	Diámetro del tallo mínimo	20,7	21,49
HT	Número total de hojas por planta	14,03	16,9
HLON	Longitud de la hoja	97,77	14,04
HANC	Ancho de la hoja	9,81	16,14
HMVEN	Venación media de la hoja	13,68	13,02
HVEN	Venación	27,36	13,02
HIND	Índice de venación	2,84	16,14
MAC	Número de Macollas	0,25	248,27
NEN	Número de entrenudos	14,01	15,26
AR	acame de raíz	0,37	131,65
AT	acame de tallo	0,15	234,94
LESP	Longitud de la espiga	47,96	20,09
LPED	Longitud del pedúnculo de la espiga	17,1	41,11
LPR	Longitud de la partes ramificada de la espiga	24,01	39,31
PPR	Porcentaje de la parte ramificada de la espiga	0,49	27,63
RP	Número de ramificaciones primarias	16,91	33,71
RS	Número de ramificaciones secundarias	3,89	67,59
RT	Número de ramificaciones terciarias	23,6	31,36
PRS	Porcentaje de ramificaciones secundarias	0,16	61,42
PRT	Porcentaje de ramificaciones terciarias	0,11	78,04
DBAS	Diámetro de la base de la mazorca	44,59	14,7
DAPIC	Diámetro del apice de la mazorca	30,77	17,87
LM	Longitud de la mazorca	16,43	25,15
DMED	Diámetro de la mazorca	42,19	15,28
FMZCAL	Forma de la mazorca calculado	13,13	37,63
HGRAN	Número de hileras de granos	13,95	19,65
LP	Longitud el pedúnculo de la mazorca	11,23	43,81
BRACT	Número de brácteas de la mazorca	11,28	24,32
LGRAN	Promedio de la longitud del grano	10,13	16,99
AGRA	Promedio del ancho del grano	8,43	14,8
GGRA	Promedio del grosor del grano	4,54	25,11
DMZ2	Diámetro medio de la mazorca	41,63	15,18
DTU	Diámetro de la tusa	25,78	19,37
DRAQ	Diámetro del raquis	15,59	26,5
LRAQ	Longitud de la raquilla	13,02	16,85
ITURAQ	Índice tusa/raquis	1,71	19,08
IGLUGRAN	Índice gluma/grano	0,51	31,19
ILRAQLGRAN	Índice raquilla/grano	1,31	17,66

Tabla 16. Análisis descriptivo para las variables cuantitativas evaluadas Maíces Tierras Altas (MTA).

Variable		MEDIA	CV
LGRAN	Promedio de la longitud del grano	1	219,36
AGRA	Promedio del ancho del grano	0,98	180,23
GGRA	Promedio del grosor del grano	0,59	152,87
RT	Numero de ramificaciones terciarias	2,63	102,46
LP	Longitud el pedúnculo de la mazorca	12,84	70,37
RS	Numero de ramificaciones secundarias	4	53,71
FMZCAL	Forma de la mazorca calculado	10,83	46,49
AMZ	Altura de la mazorca	131	45,71
DTU	Diámetro de la tusa	26,47	35,18
APL	Altura de la planta	198,36	33,77
LPR	Longitud de la partes ramificada de la espiga	14,81	27,76
DMIN	Diámetro del tallo mínimo	18,98	25,36
DMAX	Diámetro del tallo máximo	20,76	23,35
NEN	Índice de venación	12,6	22,53
DRAQ	Diámetro del raquis	14,78	22,23
HT	N° total de hojas por planta	13,59	20,87
RP	Numero de ramificaciones primarias	12,53	20,53
LM	Longitud de la mazorca	14,5	20,34
LPED	Longitud del pedúnculo de la espiga	18,64	17,18
HANC	Ancho de la hoja	9,62	16,38
DBAS	Diámetro de la base de la mazorca	41,12	15,7
BRACKT	Numero de brácteas de la mazorca	11,02	15,54
DAPIC	Diámetro del ápice de la mazorca	31,05	15,06
HVEN	Venación media de la hoja	23,75	15,02
DMZ2	Diámetro medio de la mazorca	39,26	14,21
LESP	Longitud de la espiga	37,2	13,85
DMED	Diámetro de la mazorca	39,87	13,1
IGLUGRAN	Índice gluma/grano	0,55	12,73
LRAQ	Longitud de la raquilla	12,24	11,62
HGRAN	Numero de hileras de granos	11,59	11,2
ILRAQLGRAN	Índice raquilla/grano	1,27	7,31
ITURAQ	Índice tusa/raquis	18,21	2,61
HLON	Longitud de la hoja	80,93	1,35
HIND	Venación	25,13	1,11
PRT	Porcentaje de ramificaciones terciarias	11,18	0,75
PRS	Porcentaje de ramificaciones terciarias	19,55	0,37
PPR	Porcentaje de la parte ramificada de la espiga	39,21	0,2

La altura de la planta (APL) se estima midiendo la longitud total del tallo desde la base de la raíz, hasta la base de la espiga. Es una de las características de importancia agronómica, en la identificación de razas, se ha registrado que los materiales primitivos presentan una variación alta para este carácter, el rango es suficientemente amplio para generar mayor heterogeneidad entre accesiones. En los maíces de Tierras altas tiene un promedio 1,9 m, mientras que los de Tierras bajas en promedio miden 2,3 m. Pueden encontrarse genotipos entre 1 y 3 metros de altura.

De acuerdo con lo explicado por Lagunes *et al.*, (2012) esta variación se debe a la adaptación a las regiones geográficas donde se cultiva, ya que con las condiciones ambientales en las cuales se ha domesticado dicha población, pueden encontrarse genotipos de menor altura, cuando se cultivan a condiciones de tierras altas, y por el contrario genotipos con hasta 3 metros, cultivados en zonas bajas.

Por su parte el Número de macollas, el Acame de raíz y Acame de Tallo, son caracteres asociados a la arquitectura de planta, presentes en los llamados maíces primitivos, su variabilidad ha explicado la adaptación de estos a las zonas de siembra ya que expresan la capacidad que tiene la planta de desarrollar raíces adventicias, que evitan problemas de volcamiento (Arias *et al.*, 2014). En la figura 7 se observa la presencia de estos caracteres en la colección de maíces evaluados.



Figura 7. (A) Se observa macollamiento en la base del tallo. (B) Raíces adventicias y tallos relacionados con el Acame.

En los maíces de tierras altas (MTA), los caracteres asociados a la mazorca en especial al grano aportan gran información para discriminar cada una de las razas. Entre los más relevantes se presentan: Longitud del grano (LGRAN), Ancho del grano (AGRA) y Grosor del grano (GGRA).

El conjunto de las características asociadas al grano, como la longitud, ancho y grosor, son un claro indicador del uso y el proceso de selección, que han tenido las razas de maíz en Colombia. Por ejemplo la raza Pollo, es considerada primitiva, por tratarse de una planta de porte bajo, mazorca y granos pequeños, esta raza ha sido utilizada principalmente para la alimentación de aves (pollos), de ahí su nombre y que sea conservada por comunidades campesinas hasta la fecha (Caetano *et al.*, 2014).

Todos los caracteres presentes en las razas de maíces se conservan por la importancia que tiene para el agricultor y el desarrollo del cultivo depende de muchas prácticas tradicionales que permiten mantener el material (Arias *et al.*, 2015).

4.2 Análisis de Correlación

El análisis de correlación determinó asociaciones directamente proporcionales y significativas para algunos de los caracteres evaluados. En la tabla 17 y tabla 18 se presentan el porcentaje de correlación para los datos de maíces de tierras bajas (MTB) y maíces de tierras altas (MTA), respectivamente.

De las tablas se observó que el carácter Altura de plana (APL) está directamente relacionada con la altura de la mazorca (AMZ). Los coeficientes de correlación fueron de 0,82** en MTB y 0,89** en MTA, las correlaciones que se presentan han sido objeto de números estudios, en distintas poblaciones de maíz, y el valor de correlación oscila alrededor de 0.80, (Robinson *et al.*, 1951) lo cual concuerda con los resultados obtenidos.

Tabla 17. Valores de correlación significativa para para los caracteres evaluados en los maíces tierras bajas (MTB).

Correlación Directa		Promedio	Promedio		% Correlación	Sig
Altura de la planta (cm)	APL	239,26	Altura de la mazorca (cm)	AMZ	149,9	0,82 **
Díámetro de la mazorca (cm)	DMED	42,18	Díámetro medio de la mazorca (cm)	DMZ2	-	0,96 **

** altamente significativa ($p < 0.001$); * significativa ($p < 0.1$)

Altura de la planta con un promedio de 198,36 cm tiene una relación directa superior al 90% con altura de la mazorca esto indica que la planta a mayor altura, Altura de la mazorca está carácter tiene una correlación directa altura de planta de ahí que presenta una correlación con las mismas caracteres evaluados (Mena *et al.*, 2012).

Tabla 18. Valores de correlación significativa para los caracteres evaluados en los maíces tierras altas (MTA).

Variables directamente correlacionadas	Promedio	Promedio	% Correlación	Sig			
Altura de la planta	APL	198,36	Altura de la mazorca	AMZ	131,00	0,99	**
Altura de la mazorca	AMZ	131,00	Diámetro del tallo máximo	DMAX	20,76	0,87	
	AMZ		Diámetro del tallo mínimo	DMIN	18,98	0,89	
	AMZ		N° total de hojas por planta	HT	13,59	0,92	
Diámetro del tallo máximo	DMAX	20,76	Diámetro del tallo mínimo	DMIN	18,98	0,99	*
N° total de hojas por planta	HT	13,59	Venación media de la hoja	HVEN	23,75	0,87	
Ancho de la hoja	HANC	9,62	Venación media de la hoja	HVEN	23,75	0,81	
Diámetro de la base de la mazorca	DBAS	41,12	Diámetro de la mazorca	DMED	39,87	0,90	
	DBAS		Diámetro medio de la mazorca	DMZ2	39,26	0,92	
Diámetro de la mazorca	DMED	39,87	Diámetro medio de la mazorca	DMZ2	39,26	0,95	
	DMED		Diámetro del raquis	DRAQ	14,78	0,85	
	DMED		Longitud de la raquilla	LRAQ	12,24	0,87	
Longitud el pedúnculo de la mazorca	LP	12,84	Diámetro de la tusa	DTU	26,47	0,83	
Diámetro medio de la mazorca	DMZ2	39,26	Diámetro del raquis	DRAQ	14,78	0,92	
	DMZ2		Longitud de la raquilla	LRAQ	12,24	0,90	

Por otra parte las características asociadas con la morfología de la mazorca como: el Diámetro de la mazorca (DMED), Diámetro medio de la mazorca (DMZ2), Diámetro de la base de la mazorca (DBAS) y Longitud del pedúnculo (LP), son caracteres que responden conjuntamente a la producción de grano, y son definidos para las razas de maíces, puesto que son notables las diferencias de la mazorca entre una raza y otra, e incluso dentro de una misma raza.

Otras características altamente correlacionadas fueron el Diámetro del tallo máximo (DMAX), el Número total de hojas por planta (HT), el ancho de la hoja (HANC) y venación media de la Hoja (HVEN), estos caracteres se relacionan biológicamente por que responden a los procesos fisiológicos de la planta, en las razas de maíz evaluadas, se encontró accesiones que mostraban una mayor área foliar y tallos más delgados, con respecto de otras, sin embargo esto también depende de la posición dentro de la parcela experimental y los requerimientos agronómicos (agua, luz, fertilización, etc.)

Los diámetros de tallo y de mazorca hacen parte de la arquitectura en general de la planta y representa uno de los factores significativos en la identificación de maíces criollos, ya que, son rasgos morfológicos definidos y representativos para cada raza. La variación de estos caracteres, puede ser baja dentro de una raza, pero alta entre razas. Esto podría explicarse porque dentro de las poblaciones, se ha conservado su estructura genética (Rodríguez *et al.*, 2012).

4.3 Análisis de Componentes principales (ACP)

Con el análisis de componentes principales, se logró identificar la contribución de los caracteres a la varianza total del experimento, deduciendo cuales permitirían definir rasgos distintivos en cada una de las razas de maíz evaluadas. En la tabla 19 se presentan los componentes principales para los dos grupos evaluados: Maíces de tierras bajas (MTB) y Maíces de tierras altas (MTA).

Tabla 19. Proporción de la varianza asociada a los componentes de la variación en los grupos de maíces evaluados MTB y MTA.

Componentes principales MTB				
CP	Auto Valor	Diferencia	Proporción	Acumulado
1	6,52	1,40	0,18	0,18
2	5,12	0,98	0,14	0,31
3	4,14	0,70	0,11	0,43
4	3,44	0,71	0,09	0,52
5	2,73		0,07	0,59
Componentes principales MTA				
1	1,51	0,79	0,35	0,35
2	7,19	0,37	0,16	0,51
3	3,42	0,12	0,07	0,59
4	2,15		0,05	0,64

De acuerdo con los resultados obtenidos los caracteres asociados a la variación se agruparon como se explica a continuación:

Maíces de tierras bajas (MTB)

En el componente principal 1 (CP1) agrupa las características: diámetro del tallo máximo (DMAX) con un valor de 24,7% de aporte en la variabilidad de población, diámetro del tallo mínimo (DMIN) con el 23,9%, y el número total de ramificaciones (TR) con un 23,6%. En el componente principal 2 (CP2) se expresa el mayor aporte de longitud del grano (LGRAN) con el 16,7%, ancho del grano (AGRA) con el 18,0%. En el componente principal 3 (CP3) están el Diámetro de la base de la mazorca (DBAS) con el 20,4%, diámetro del ápice de la mazorca (DAPIC) con el 24,4%, diámetro de la mazorca (DMED) con el 22,9% y Diámetro medio de la mazorca (DMZ₂) con un aporte del 21,9%.

En el componente principal 4 (CP4) agrupa las características longitud del grano (LGRAN) con el 20,7%, ancho del grano (AGRA) con el 22,1%, índice de Venación (HVEN) con el 21,5% y finalmente en el componente principal 5 (CP5) el mayor aporte son las características altura de la planta (APL) con 31,6%, altura de la mazorca (AMZ) con el 31,9% y número de entrenudos (NEN) con el 42,6%.

En resumen el aporte general de cada uno de los componentes, contribuyeron con el 59% de la variabilidad total. El componente uno (CP1) estuvo determinado por las características de la planta y el total de las ramificaciones de la espiga con un aporte del 18% de variación expresado. El componente CP2, CP3 y CP4 representó características externas de la mazorca, especialmente en grano y forma; con el 14%, 11% y 7% de la variabilidad, respectivamente.

Maíces de tierras altas (MTA)

El componente principal 1 (CP1) agrupa las características: Altura de la planta corresponde a 23,6%, Altura de la mazorca corresponde a 23,2%, Diámetro del tallo máximo corresponde a 23,8%, Diámetro del tallo mínimo corresponde a 23,6%. Número total de hojas por planta corresponde a 23,4%, Ancho de la hoja corresponde a 22,2%, Número de entrenudos corresponde a 23,4%, Longitud de la partes ramificada de la espiga corresponde a 23,0%.

Para el componente 2 (CP2) están el Diámetro de la base de la mazorca corresponde a 31,3%, diámetro de la mazorca corresponde a 31,5%, Peso de 100 granos a una humedad del corresponde a 10% 27,8%, diámetro medio de la mazorca corresponde a 31,5%, diámetro del raquis corresponde a 29,4%, longitud de la raquilla corresponde a 27,8%. El componente 3 (CP) están agrupados el Número de hileras de granos corresponde a 38,3%, y para el componente 4 (CP4) la floración masculina corresponde a 39,8%, floración femenina corresponde a 39,4%.

En resumen los cuatro primeros componentes explicaron el 64,86% de la variabilidad total. El CP1 determinado por las características de la planta como altura de planta y mazorca, diámetro de tallo y numero de hojas con una representación del 35.1% de variación expresada. Mientras el CP2 representó las características externas de la mazorca con un 16,7% de variabilidad. El CP3 y CP4 representa el 7,9 y 5% de la variabilidad respectivamente asociado a los caracteres de rendimiento: Mediad del grano y la floración.

4.4 Análisis de los gráficos de asociación

Maíces tierras Bajas (MTB)

En la figura 8 se presenta el dendrograma producto de la asociación entre los caracteres evaluados, se organizaron en tres grupos. Las accesiones y razas pertenecientes a cada grupo se muestran en la tabla 20.

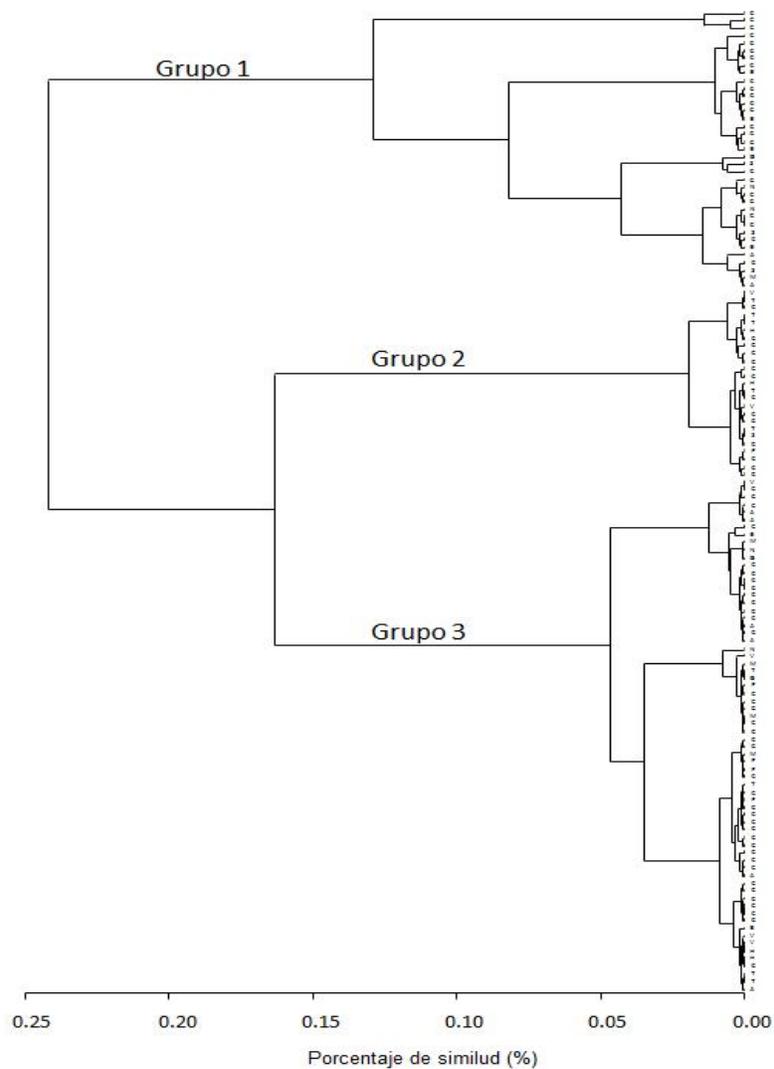


Figura 8. Conformación de grupos a partir de caracteres morfométricos en la evaluación de razas de Maíces Tierras bajas (MTB).

52 Variables morfométricas y análisis molecular para la identificación de razas colombianas de Maíz (*Zea mays* L.)

Tabla 20. Accesiones y razas asociadas al os grupos conformados la figura 8, MTB.

Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
Accesión	Raza	Accesión	Raza	Accesión	Raza
ZmColCIM3130	Cariaco	ZmColCIM3164	Amagaceño	ZmColCIM20587	Amagaceño
ZmColCIN3131	Cariaco	ZmHuiCol006	Andaquí	ZmColCIM3165	Amagaceño
ZmColCIM3129	Cariaco	ZmValCol006	Común	ZmColCIM20587	Amagaceño
ZmCorCol006	Cariaco	ZmTolCol003	Común	ZmCauCol003	Andaquí
ZmColCIM3132	Cariaco	ZmHuiCol002	Común	ZmColCIM20524	Andaquí
ZmAtlCol005	Cariaco	ZmTolCol007	Común	ZmColCIM20491	Andaquí
ZmMagCol003	Cariaco	ZmValCol008	Común	ZmColCIM3185	Cacao
ZmColCIM3217	Chococeño	ZmCalCol001	Común	ZmAntCol003	Capio (nid)
ZmChoCol004	Chococeño	ZmColCIM3168	Común	ZmColCIM3214	Chococeño
ZmColCIM3219	Chococeño	ZmCorCol009	Costeño	ZmValCol013	Chococeño
ZmColCIM3213	Chococeño	ZmColCIM3194	Costeño	ZmColCIM20559	Clavo
ZmColCIM4193*	Chococeño	ZmColCIM3192	Costeño	ZmValCol014	Común
ZmColCIM3177	Común	ZmColCIM3190	Costeño	ZmColCIM3175	Común
ZmNdSCol006	Común	ZmCorCol003	Costeño	ZmColCIM3173	Común
ZmCauCol006	Común	ZmColCIM3193	Costeño	ZmColCIM3170	Común
ZmSanCol002	Común	ZmSucCol001	Costeño	ZmTolCol002	Común
ZmValCol006	Común	ZmColCIM3195	Costeño	ZmCauCol002	Común
ZmTolCol003	Común	ZmColCIM7903	Negrito	ZmColCIM3169	Común
ZmColCIM3195	Costeño	ZmCorCol001	Puya	ZmCauCol004	Común
ZmNdSCol005	Costeño	ZmColCIM3208	Puya grande	ZmColCIM3176	Común
ZmBolCol003	Costeño	ZmCunCol010	Sabanero	ZmValCol004	Común
ZmAtlCol001	Costeño	ZmTolCol001	Yucatán	ZmValCol007	Común
ZmCauCol009	Maíz harinoso	testigo		ZmHuiCol005	Común
ZmColCIM21636	Maíz harinoso dentado	testigo		ZmTolCol005	Común
ZmColCIM21602	Maíz harinoso dentado	ZmPutCol015		ZmAntCol002	Común
ZmBoyCol012	Maíz harinoso dentado			ZmCorCol011	Costeño
ZmGuaCol002	Negrito			ZmMagCol002	Costeño
ZmColCIM3199	Negrito			ZmColCIM3191*	Costeño
ZmBolCol007	Pira			ZmAtlCol002	Costeño
ZmCesCol004	Puya			ZmMagCol001	Costeño
ZmCesCol003	Puya			ZmCorCol002	Costeño
ZmCesCol006	Puya			ZmColCIM3121	Güirua
ZmChoCol002	Puya grande			ZmColCIM3202	Puya
ZmColCIM3205	Puya grande			ZmBoyCol002	Puya
ZmBoyCol014	Sabanero			ZmGuaCol003	Puya
ZmCunCol015	Sabanero			ZmCorCol007	Puya
ZmSanCol003	Sabanero			ZmCorCol005	Puya
ZmSanCol001	Sabanero			ZmCorCol004	Puya
				ZmColCIM3203	Puya
				ZmNdSCol016	Puya
				ZmMagCol004	Puya
				ZmTolCol006	Puya
				ZmGuaCol001	Puya
				ZmCalCol003	Puya
				ZmMagCol005	Puya
				ZmChoCol003	Puya
				ZmAraCol003	Puya grande
				ZmAraCol002	Puya grande
				ZmNdSCol014	Puya grande
				ZmColCIM3209	Puya grande
				ZmCesCol001	Puya grande
				ZmAraCol001	Puya grande
				ZmColCIM3207	Puya grande
				ZmChoCol001	Puya grande
				ZmColCIM3206	Puya grande
				ZmCunCol014	Sabanero
				ZmColCIM22766	Sabanero
				ZmCunCol004	Sabanero
				ZmBoyCol013	Sabanero
				ZmColCIM20566	Yucatán
				ZmColCIM20570	Yucatán
				ZmHuiCol001	Yucatán
				ZmTolCol004	Yucatán
				ZmPutCol019	
				ZmPutCol017	
				ZmPutCol018	
				ZmPutCol021	

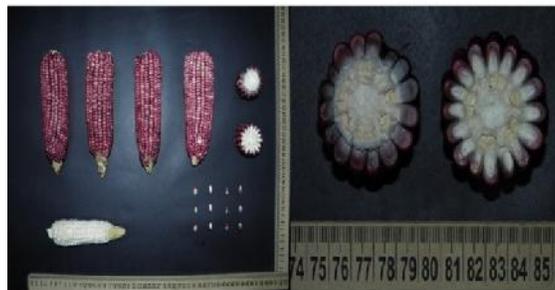
Un análisis de la media para tres caracteres de la raza negro en las accesiones evaluadas, se observó que para la variable longitud del pedúnculo de la espiga (LPED), la accesión ZmCIM3199 del G1 comparte características con accesiones del G2., para la variable parte ramificada de la espiga (PPR) las dos accesiones de CIMYT se agrupan y en la variable Longitud de la mazorca (LM) las accesiones de CIMMYT se agrupan con una media de 12cm, mientras que la accesión de GIRFIN genera un grupo nuevo con una media de 15,5 cm.

Lo anterior podría indicar que esta raza ha sufrido procesos de selección con el fin de obtener un mayor tamaño y aumento la longitud de la mazorca en 3,5 cm. Los datos se presentan en la tabla 21.

Tabla 21. Análisis MLG para *negrito* variable LPED, PPR y IM

Grupo LPED	media	N	Accesión	Grupo PPR	media	N	Accesión	Grupo IM	media	N	Accesión
A	19,1	10	Gua002	A	0,7	7	CIM3199	A	15,5	10	Gua002
A				A							
B	18	7	CIM3199	A	0,6	10	CIM7903	B	12,7	10	CIM7903
B								B			
B	13,8	10	CIM7903	B	0,4	10	Gua002	B	12,6	7	CIM3199

ZmGuaCol002



ZmColCIM3199



ZmColCIM7903



Figura 9. Fotografías comparación CIMMYT_ accesiones colectadas GIRFIN. Raza *negrito*. A). ZmColCIM3199 CIMMYT G1., B). ZmGuaCol002 GIRFIN G1., C). ZmColCIM7903 CIMMYT G2.

En la Figura 9.A Se muestra una similitud en la morfología de la mazorca, estas tienden a ser cónica mientras que en la B), las mazorca tiende a ser cilíndrica y de mayor tamaño, es importante resaltar la variación de color de grano entre las accesiones de los dos grupos mientras el G1 tiene un color claro Figura 9 A) y B) en el grupo 2 el color es oscuro Figura C).

Maíces tierras Altas (MTA)

En la figura 9 se presenta el dendrograma producto de la asociación entre los caracteres evaluados, se observó que las razas que comparten asociación de caracteres entre los grupos conformados, y aquellas que se encuentran definidas con diferencias significativas se organizaron en tres grupos y el grupo 3 contiene dos subgrupos: a y b. Las accesiones y razas pertenecientes a cada grupo se muestran en la tabla 20.

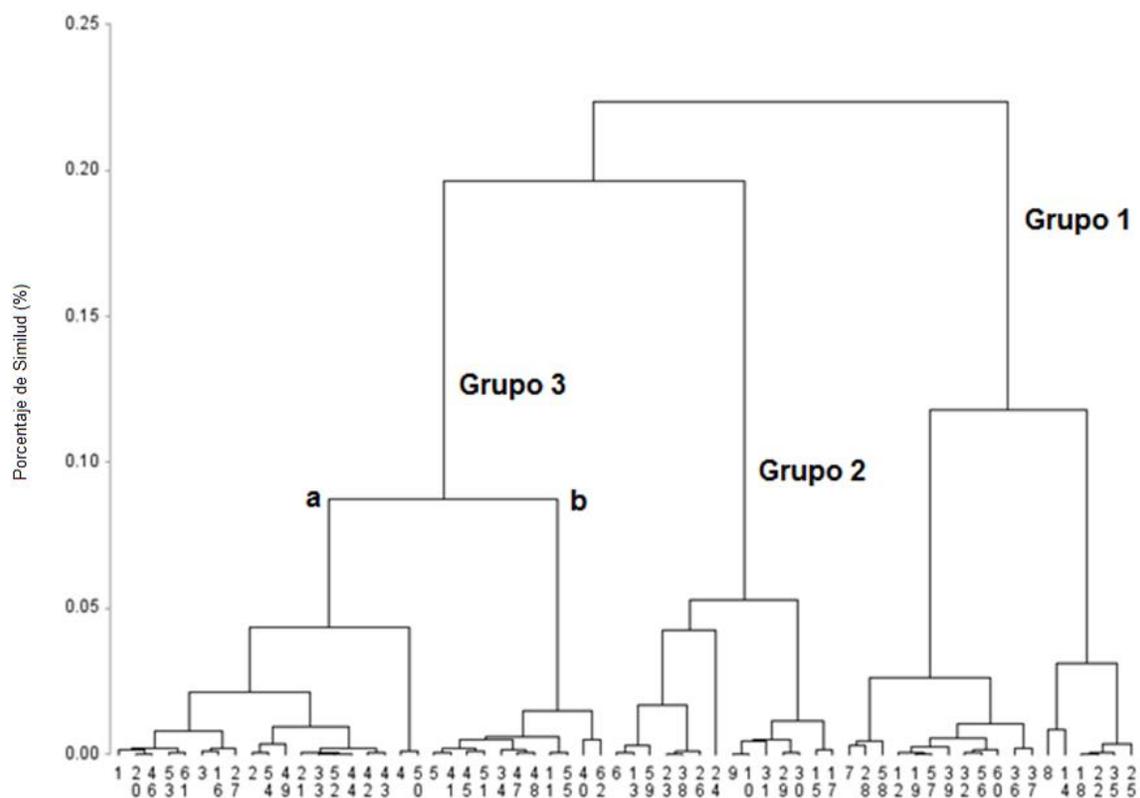


Figura 10. Conformación de grupos a partir de variables morfométricas en la evaluación de razas de Maíces de Tierras Altas (MTA).

Tabla 22. Accesiones y razas asociadas al os grupos conformados la figura 9, MTA.

Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
Accesión	Raza	Accesión	Raza	Accesión	Raza
ZmBoyCol005	AMAGACEÑO	ZmBoyCol004	CABUYA	ZmAntCol001	CLAVO
ZmBoyCol006	AMAGACEÑO	ZmBoyCol007	CABUYA	ZmAntCol004	CLAVO
ZmCauCol005	CABUYA	ZmBoyCol009	CABUYA	ZmAntCol005	COMÚN
ZmColCIM3108	COMÚN	ZmColCIM3153	Cabuya	ZmAntCol006	MONTAÑA
ZmColCIM3127	COMÚN	ZmNdSCol002	CABUYA	ZmColCIM3118	MONTAÑA
ZmColCIM3157	COMÚN	ZmColCIM3171	Común	ZmColCIM3155	MONTAÑA
ZmColCIM3113	COMÚN	ZmCunCol009	COMÚNXCABUYA	ZmColCIM3156	MONTAÑA
ZmColCIM3166	COMÚN	ZmValCol003	COMÚNXPIRA	ZmCunCol001	MONTAÑA
ZmCunCol002	MAÍZ DULCE	ZmColCIM3140	Imbricado	ZmNarCol006	MONTAÑA
ZmNarCol005	MONTAÑA	ZmColCIM3105	Pollo	ZmPutCol002	MONTAÑAXCAPIO
ZmNarCol009	MONTAÑA	ZmColCIM3106	Pollo	^a ZmPutCol004	MONTAÑAXCAPIO
ZmNarCol010	MONTAÑAXCLAVO	ZmColCIM3187	Sabanero	ZmPutCol006	MONTAÑAXCAPIO
ZmNarCol012	MONTAÑAXCLAVO	ZmCunCol005	SABANERO	ZmPutCol009	MONTAÑAXCAPIO
ZmNdSCol003	MONTAÑO	ZmCunCol006	SABANERO	ZmPutCol010	MONTAÑAXCAPIO
ZmTolCol009	PIRA			ZmPutCol012	MONTAÑAXCAPIO
ZmValCol001	PIRA			ZmPutCol013	MONTAÑO
ZmValCol002	PIRA NARANJA			ZmPutCol014	MONTAÑO
ZmValCol010	PIRA NARANJAXMONTAÑA			Testigo1	TESTIGO1
				ZmAntCol007	AMAGACEÑO
				ZmCauCol001	AMAGACEÑO
				ZmNarCol008	CAPIO
				ZmNdSCol007	CAPIO
				ZmPutCol001	MONTAÑA
				^b ZmPutCol005	MONTAÑA
				ZmPutCol007	MONTAÑAXCAPIO
				ZmPutCol008	MONTAÑAXCAPIO
				ZmPutCol011	MONTAÑAXCAPIO
				ZmTolCol008	MONTAÑAXCAPIO
				Testigo2	TESTIGO2

En los maíces de tierras altas (MTA) se identificó que algunas de las accesiones colectadas por GIRFIN en realidad son producto del cruce y selección por parte de las comunidades de razas de maíces.

A algunas razas se definieron exclusivamente para cada uno de los grupos mientras que otras comparten características entre dos o tres grupos., Para el caso de la raza “Cabuya” que se encuentra en el grupo 1 (G1) y 2 (G2), la accesiones del G1 corresponde a una colecta realizada en el departamento de Boyacá (ZmBoyCol005) mientras que las accesiones del G2 corresponden colectas realizadas en Boyacá, Norte de Santander y una accesiones repatriada de CIMMYT (ZmColCIM3153), esto podría explicarse ya que las accesiones del G1 puede ser el resultado de una presión ambiental ó cruce con otro maíz en algún momento de la historia generando que su expresión fenotípica sufriera cambios, pero no lo suficiente para que perdiera su identidad como raza, además existen variación inter-racial por tratarse de poblaciones heterogéneas

Entre el grupo 1 (G1) y 3 (G3) se presentó un conjunto de dos razas “Amagaceño” y” Montaña”. La raza Amagaceño cuenta con 1 accesión en el G1 (ZmColCIM3166) repatriada de CIMMYT y de origen el departamento de Nariño, y con 2 accesiones es en el G3 (ZmCauCol001, ZmTolCol008), proveniente del Cauca y Tolima respectivamente, estas agrupaciones se explican por las adaptaciones que realizan las razas al desplazarse a diferentes condiciones ambientales, ya que teniendo en cuenta los datos de origen se puede identificar que las poblaciones que realizan el uso de esta planta emigraron desde el sur hacia el norte.

En la figura 11 se puede identificar que en comparación de lo colectado en la década de 1950, la raza en la actualidad conserva las mismas características morfológicas, pero se presentó una presión de selección en el color del grano, pasando de blanco y amarillo claro a amarillo, la forma de la mazorca ha cambiado ya que la actual tiene una forma cilíndrica en comparación a la cónica de la raza repatriada.



Figura 11. Fotografías comparación testigo CYMMIT_ accesiones colectadas GIRFIN. Raza Amagaceño. A), accesiones repatriadas de CIMMYT (ZmColCim3166). B), Colecta realizada en el departamento del cauca (ZmCauCol001).

Para las razas Común, con accesiones pertenecientes a cada uno de los grupos se explica por qué se cuenta con accesiones provenientes de diferentes departamentos y zonas agroecológicas para cada una de las razas lo cual genera cambios (diversidad) inter raciales.

Las razas de híbridos en el G1 son Montaña x Clavo, con 2 accesiones y Pira Naranja x Montaña. Mientras que el G2 tiene a Común x Cabuya y Común x Pira, por ultimo en el G3 Montaña x Capiro, estos tipos de hibridaciones son somunes por tratarce de plantas alogamas que comparte los mismos departamentos y las comunidades que utilizan estas razas tienden a intercambiar semillas

4.6 Parámetros de Diversidad genética

Marcadores ADN de genoma cloroplástico cpADN

Los resultados mostraron que se agrupan en tres divisiones. El Grupo 1, está conformado por los sub grupos 1 y 2, el sub grupo 1 está conformado por las razas Imbricado, Pollo y Pira de las cuales Pollo y Pira pertenecen por sus características al grupo racial Primitivas de acuerdo con la descripción de Roberts *et al.*, (1957). La raza Imbricado del grupo racial Híbridas colombianas, debe agregarse a dicho grupo ya que al comparar la información del dendrograma (Figura 12), se observó gran proximidad con estas razas, además estas regiones de ADN son altamente conservadas lo cual evidencia la proximidad entre estas razas desde el punto de vista evolutivo.

En el sub grupo 2 se encuentran razas de diversos grupos raciales como lo son grupo racial probablemente introducidas las razas Clavo, Guirua y Cariaco, mientras que Cabuya, Yucatan y Costeño, pertenecen a Híbridas colombianas. En el grupo 2 se presenta dos subgrupos de los cuales en el primer subgrupo se encuentra Sabanero y Harinoso Dentado, que pertenece al grupo racial probablemente introducida, mientras que Montaña, Amagaseño, común, Puyagrande y Chocoseño, pertenecen a Híbridas colombianas. En el segundo subgrupo se encuentran Pira Naranja para el grupo probablemente introducidas mientras que para el grupo híbridas colombianas negritas y puyas.

En el grupo 3 se encuentran las razas Maíz Dulce y Cacao del grupo racial probablemente introducidas mientras que capio pertenece a híbridas colombiana

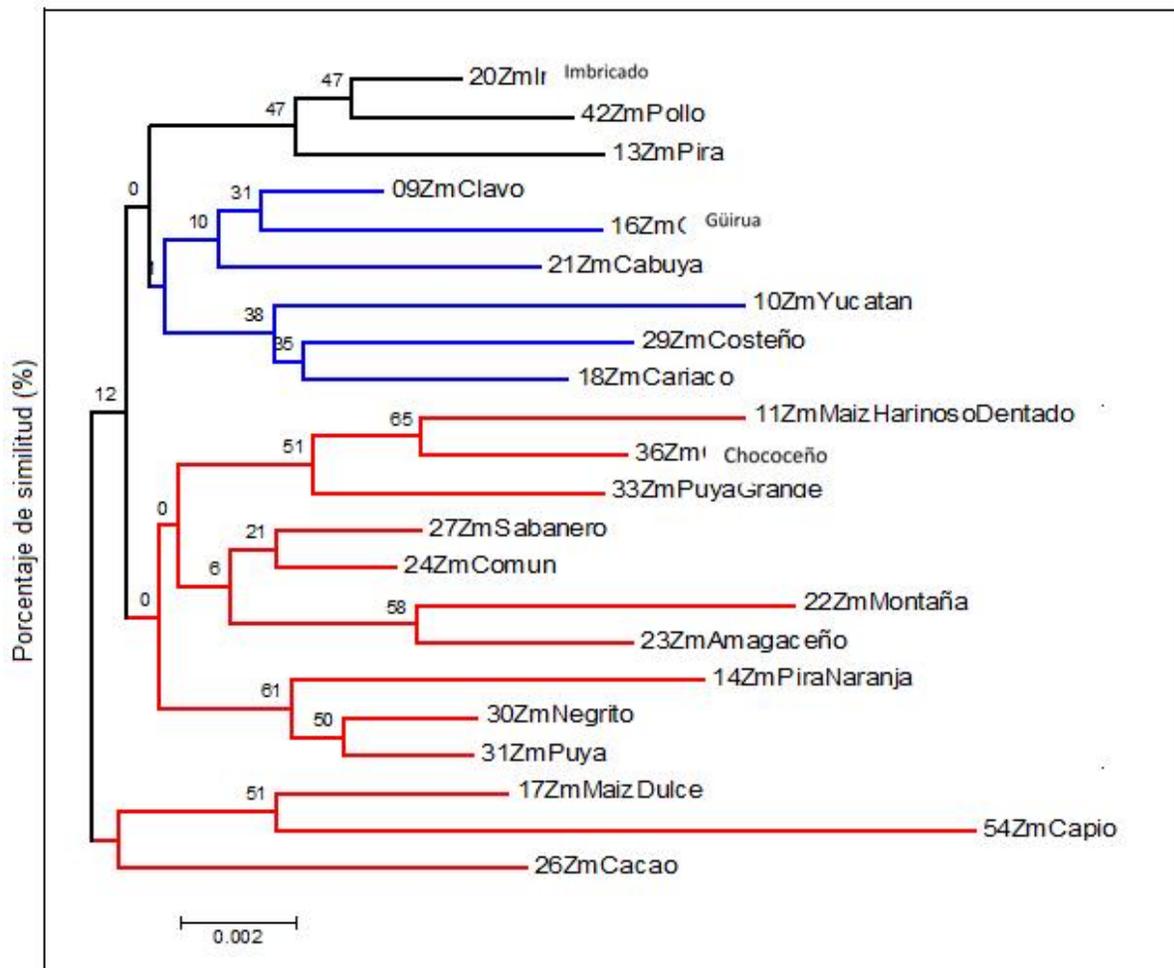


Figura 12. Estructura genética construida a partir del método Tamura 3 parámetros, mediante la región genómica cloroplástica ATpB-1-RbcL-1. Tomada de Revelo *et al.*, 2014.

Marcadores tipo RAM

Los resultados mostraron diferencias significativas entre todos los marcadores, en la tabla 23, se realizaron 18 agrupaciones teniendo en cuenta el concepto de “raza”, así se agrupan aquellos individuos que comparten características en común, de orden morfológico, ecológico, genético y de historia de cultivo, que permiten diferenciarlas como grupo (Anderson y Cutler, 1942; Harlan y de Wet, 1971; Hernández y Alanís, 1970).

Tabla 23. Heterosis esperada y porcentaje de Loci polimórfico para cada una de las razas evaluadas.

Grupos	Razas	He	%P
1	Pollo	0,088±0,016	21,19%
2	Pira	0,060±0,013	14,41%
3	Pira Naranja	0,032±0,010	7,63%
4	Clavo	0,046±0,012	11,02%
5	Guirua	0,098± 0,016	23,73%
6	Cariaco	0,191±0,020	47,46%
7	Sabanero	0,141±0,018	36,44%
8	Montaña	0,084± 0,016	20,34%
9	Amagaceño	0,151±0,018	43,22%
10	Común	0,169±0,017	51,69%
11	Costeño	0,170±0,017	56,78%
12	Negrito	0,021±0,008	5,08%
13	Puya	0,021±0,008	5,08%
14	Puya Grande	0,096±0,014	33,05%
15	Chocoseño	0,153±0,017	48,31%
16	Andaquí	0,095±0,016	22,88%
17	Yucatán	0,053±0,013	12,71%
18	Harinoso Dentado	0,049±0,012	11,86%
	Media	0,095	26,27%
	S ²	0,004	4,06%

El dendrograma (Figura 13) presento tres agrupaciones las cuales agruparon las accesiones así:

El grupo 1 (G1) está conformado por Montaña, Guirua y pollo. El grupo 2 (G2) está conformado por Pira, Pira naranja y Clavo. El grupo 3 (G3) está conformado por Cariaco, Sabanero, Amagaseño, común, Costeño, Puyagrande, Chocoseño, Andaquí, Harinoso Dentado, Yucatán y Negrito.

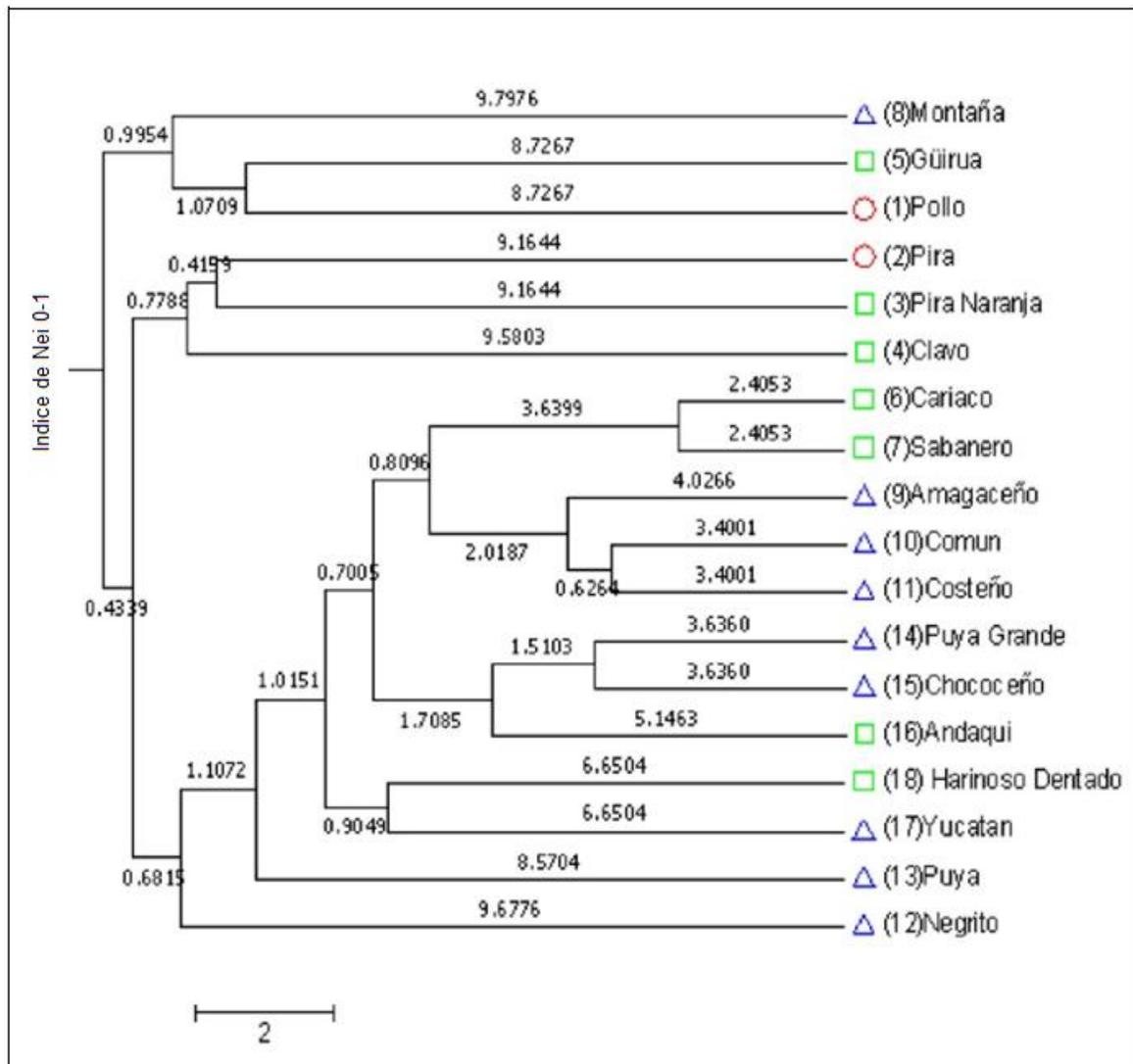


Figura 13. Dendrograma de distancia genética calculado con el índice de Nei (1978) construido con el método de UPGMA para los 18 razas evaluadas, representadas así ▲=Híbridas ■=Introducidas ●=Primitivas

Los resultados indican un porcentaje de variación entre grupos del 12% y dentro de grupos 88%, por lo que supone que gran parte de la diversidad genética se encuentra dentro de las razas, esta variación genética se debe a la gran diversidad de las 142 accesiones, entre las que se encuentran 23 razas de maíces evaluadas y a la diferencia entre individuos que conforman un grupo.

Marcadores Microsatelites SSR

Los resultados que se presentan en la tabla 24, muestra para cada marcador molecular SSR evaluado los parámetros: 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 (F_{IS}).

Tabla 24. Microsatélites analizados (SSR), con respectivos 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 (F_{IS}).

Marcador	NA	NPA	RA	PIC	Ho	He	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

El Número de alelos promedio para los 10 marcadores fue de $4,7 \pm 1,3$, 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.

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 Ho promedio obtenida para los 10 marcadores fue de $0,509 \pm 0.03$. Los marcadores phi115, phi127 y phi109188 presentaron un exceso de heterocigotos ya que la Ho fue mayor a la He.

El F_{IS} 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.

Dendrogramas

El análisis generado por las 10 regiones moleculares microsatélites evaluadas para cada población, se muestra en las distancias genéticas generadas para la población una población conformada por las accesiones de GIRFIN-ICA. 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.

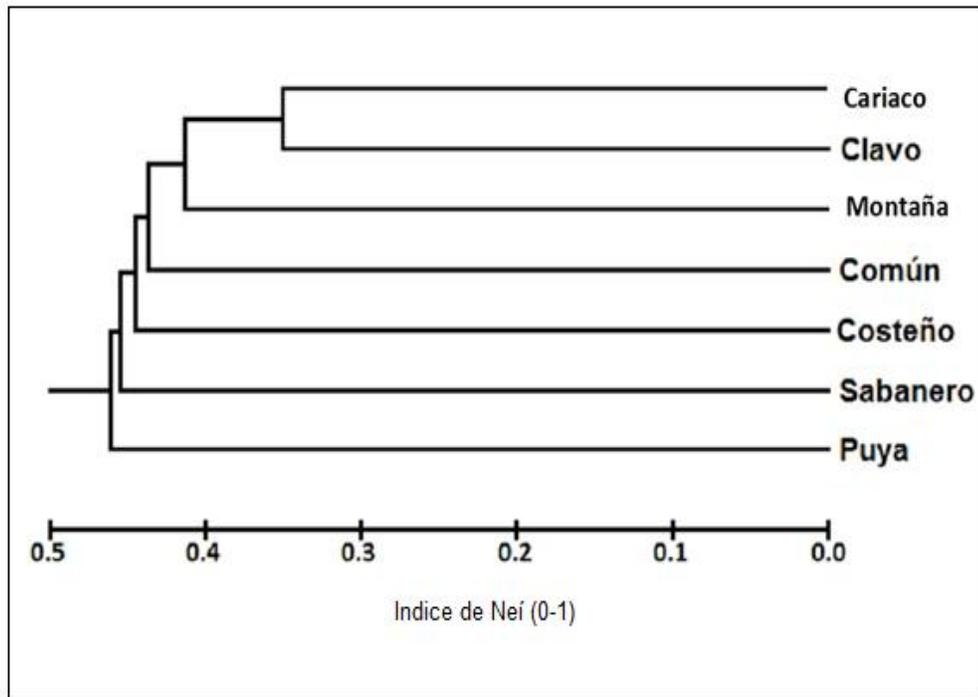


Figura 14. Dendrograma de la población GIRFIN; empleando la mínima distancia genética no sesgada de Nei (1972).

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%.

Para la población conformada por las accesiones de 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. 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. Les siguen Güirua que se aleja de Cariaco y

Pollo, las cuales presentaron una similitud y se diferenciaron de la población en un 25% (Figura 15).

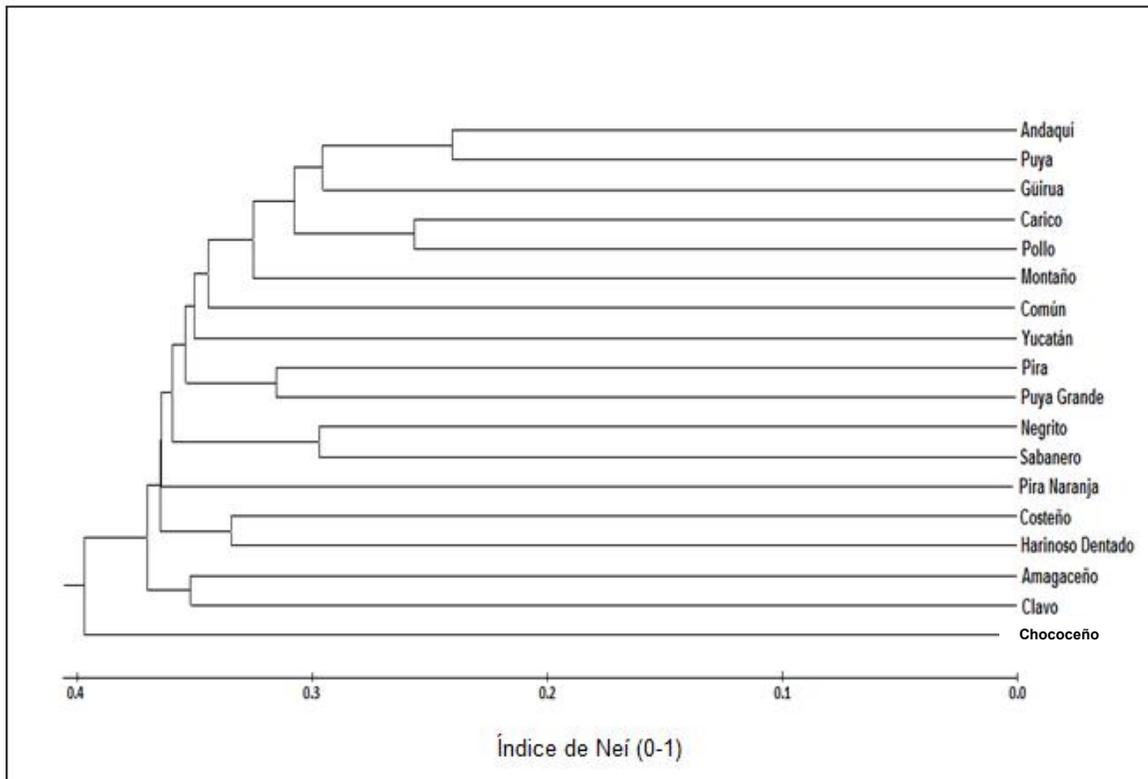


Figura 15. Dendrograma de la población CIMMYT; empleando la mínima distancia genética no sesgada de Nei (1972)

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.

4.7 Identificación de las razas de maíces

En la identificación de razas de maíz se determinaron los caracteres cuantitativos más relevantes para cada raza los cuales se encuentran en tabla 25 y tabla 26 con sus respectivos promedios.

Tabla 25. Razas de maíz de tierras bajas (MTB), variables evaluadas con mayor aporte variabilidad dentro de cada raza.

	APL (cm)	AMZ (cm)	DMAX (mm)	DMIN (mm)	TR (und)	DBAS (mm)	DAPIC (mm)	DMED (mm)	LGRAN (mm)	AGRA (mm)	DMZ2 (mm)
Amagaceño	234,43	147,14	22,57	20,46	21,46	45,42	27,89	41,02	9,8	8,95	40,42
Andaqui	233,43	139,29	20,31	18,2	25,23	43,1	28,47	40,5	10,01	8,22	38,2
cacao	239,09	120,91	22,64	20,45	24	47,56	32,39	44,84	10,13	9,1	41,42
Comun	241,93	144,05	22,78	20,62	21,09	46,25	32,16	43,12	10,1	9,11	43,16
Costeño	233,81	139,53	23,02	20,98	23,8	47,25	33,04	44,92	10,6	8,85	44,16
Guirua	253	155,17	24,67	22,7	28,4	39,15	27,04	35,95	8,87	7,18	37,65
Pira	250,39	164,87	23,55	21,37	31,53	35,96	25,64	35,66	8,97	6,88	34,78
Puya	257,57	161,09	22,91	21,03	24,02	43,68	30,61	41,29	11,13	8,53	40,84
Puya grande	258,04	168,04	24,11	21,98	24,14	38,54	26,43	35,96	9,22	8,48	35,71
Cariaco	191,8	121,54	21,41	19,54	24,74	49,18	34,65	47,78	9,78	8,17	47,16
chocosteño	251,46	192,21	22,05	20,08	30,79	37,92	24,89	35,76	7,39	6,15	35,13
Clavo	254,45	151,48	21,83	19,94	22,3	45,19	29,3	42,48	11,85	8,83	42,16
Maiz Harinoso dentado	270	188,2	26,36	23,68	30,64	45,23	32,73	43,78	10,37	9,07	43,03
Montaña	233,33	144,17	30,33	27,83	20,67	39,07	25,06	37,86	7,76	8,19	34,81
Negrilo	183,15	114,3	21,37	19,48	27,33	46,37	31,07	44,15	10,39	7,96	42,11
Sabanero	231,94	143,94	23,36	21,87	20,91	40,4	27,73	38,03	8,75	8,4	37,2
Yucatan	243,4	141,38	23,36	21,04	25,53	49,93	35,98	47,19	11,3	10,22	46,35

68 Variables morfométricas y análisis molecular para la identificación de razas colombianas de Maíz (*Zea mays* L.)

Tabla 26. Razas de maíz de tierras altas (MTA), variables evaluadas con mayor aporte variabilidad dentro de cada raza.

	Amagaceño	Comun	Cabuya	Imbricado	Clavo	Maíz dulce	Montaña	Pollo	Pira	sabanero	Pira Naranja
FMAS (Días)	130,15	133,741	111,75	105,069	132,56	117,933	135,72	78,333	132,167	113,467	167,636
FFEM (Días)	134,55	136,333	115,625	107,345	135	119,467	138,6	77,875	135,667	114,667	170,727
APL (cm)	201,4	132,704	100,125	120	175,08	171,4	163,04	137,333	119,833	165,167	166
AMZ (cm)	145,6	64,963	43,25	76,69	99,64	99,667	82,28	84,75	58,833	94,767	110,818
DMAX (mm)	20,65	16,296	13,438	16,069	18,04	20,333	19,32	15,792	12,333	17,533	26,364
DMIN (mm)	19,35	14,037	12	14,793	16,08	18,733	17,32	14,417	10,833	15,733	24,091
HT (und)	15,85	11,481	8,313	9,828	12,4	14,6	12,08	9,917	10,5	11,367	14,182
HANC (mm)	9,5	8,963	7,063	7,276	8,72	9,667	9,12	7,458	5,833	8,2	10
NEN (und)	14,9	10,481	7,313	8,828	11,4	13,533	10,92	8,917	9,5	10,367	13,182
LPR (mm)	15,8	11,741	9,188	8,552	12,88	14,6	15,32	13,875	7,333	12,867	13
DBAS (mm)	33,525	41,342	39,368	34,189	43,978	40,563	43,572	23,694	23,8	43,637	33,576
DMED (mm)	30,46	38,429	37,5	34,221	39,52	36,358	42,6	23,458	29,7	39,667	31,909
HGRAN (und)	11,2	11,643	9,75	12,286	10,56	12,444	12,32	8,917	12	10,467	14,364
PGR (g)	17,4	25,837	41,54	26,367	35,853	12,8	37,807	16,965	11	36,283	20,583
DMZ2 (mm)	31,084	39,956	38,158	33,969	42,699	38,002	41,217	23,459	23,08	41,036	32,015
DRAQ (mm)	11,212	15,937	13,981	11,033	16,772	15,087	15,53	8,905	6,08	16,685	11,26
LRAQ (mm)	9,936	12,01	12,088	11,468	12,964	11,458	12,844	7,277	8,5	12,176	10,377

5. Conclusiones

- El análisis de los datos y la determinación de los componentes principales (ACP) permitieron identificar que las variables de mayor relevancia para clasificar las razas de maíz y la identificación de accesiones colectadas por GIRFIN-ICA son:

Cuantitativos

Altura de la planta (APL)

Altura de la mazorca (AMZ)

Número de Macollas (MAC)

Acame de raíz (AR)

Acame de tallo (AT)

Número de ramificaciones secundarias (RS)

Número de ramificaciones terciarias (RT)

Forma de la mazorca calculado (FMZCAL)

Longitud del pedúnculo de la mazorca (LP)

Promedio de la longitud del grano (LGRAN)

Promedio del ancho del grano (AGRA)

Promedio del grosor del grano (GGRA)

Diámetro de la tusa (DTU)

Cualitativos

Color del pericarpio 1 (más predominante) (PER1)

Color aleurona 1 (mas predominante) (ALE1)

Color del endospermo 1 (más predominante) (END1)

Color del raquis (CRA)

Color de gluma (CGLU)

Color de tusa (CTU)

Tipo de grano (TIG)

Color del grano 1 (más predominante) (CGR1)

- Los estudio presentado por Revelo, (2014) Jiménez, (2014) y Rojas, (2014) generó información importante para identificar los parámetros de diversidad y estructura genética de las razas ya que a partir de DNACp, SSR y RAMs se estudiaron las razas de maíz
- A partir de DNACp se lograron agrupar razas a partir de regiones de DNA conservado en el genoma, presentó eficiencia en la identificación a nivel de grupos raciales, Sin embargo es necesario realizar replicas con un número mayor de individuos por raza con el fin de comprobar el agrupamiento por este carácter.
- Mientras que los microsatélites SSR que brindan la mayor detección de polimorfismo determinando las razas que presentan la mayor riqueza alélica y el mayor contenido de información polimórfica, esto permite discriminar entre alelos homocigotos de los heterocigotos, encontrando una máxima distancia genética estimada para las razas de la colección GIRFIN de 46%., La raza con la menor diferenciación genética fue Cariaco, con 34%
- Por último los marcadores RAM identifico cada una de las razas con una distancia genéticas mínima 2.4% y máxima de 9,7%. Cuando mayor sea la

distancia genética entre ellas, más separadas están en términos evolutivos, más distintas serán genética y fenotípicamente mostrando una mayor diversidad entre razas, no existe una distancia genética única para definir razas.

- Las evaluaciones morfométricas y moleculares permitieron la identificación de cada una de las razas de maíz mediante patrones de agrupamiento entre las ellas que varía según la técnica utilizada para su estudio.

6. Bibliografía

- Agronet. 2015., Aplicativos móviles para el Agro Colombiano; Acceso 25 de Julio (2015) <http://www.agronet.gov.co/produccion-y-agronegocios/Paginas/ProduccionNacional.aspx>
- Anderson, E. (1945). What is *Zea mays*? A report of progress. *Chron. Bot.*, 9: 88-92.
- Anderson, E., & Cutler, H. C. (1942). Races of *Zea mays*: I. Their recognition and classification. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 29(2), 69-88.
- Arias, L. M., Latournerie, L., Montiel, S., & Sauri, E. (2014). Cambios recientes en la diversidad de maíces criollos de Yucatán, México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 23(1).
- Arias, L. M., Latournerie, L., Montiel, S., & Sauri, E. (2014). Cambios recientes en la diversidad de maíces criollos de Yucatán, México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 23(1).
- Armour A. L., R. Neuman, S. Gobert y A.J. Jeffreys. (1994). Isolation of human simple repeat loci by hybridization selection. *Human Molecular Genetics* 3(4):599-605"
- Beadle, G.W. 1980. The ancestry of corn. *Sci. Am.*, 242: 112-11
- Becerra, V., & Paredes, C. (2000). Uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética. *Agricultura técnica*, 60(3), 270-281.
- Bianchi A.; Lorenzoni C.; Salamini F. (1989). *Genetica dei cereali*. Ed. Agricole, Italia. p. 376-379."
- Cazorla Dalmiro, P. (2009). Multivariate morphometric differentiation between females of two cryptic species of *Lutzomyia* subgenus *Helcocyrtomyia* (Diptera: Psychodidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 35(2), 197-201. Retrieved March 31, 2017, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882009000200015&lng=en&tlng=en.
- Chaves y Sevilla, R. (2003). Colecta y clasificación para programar la conservación in situ de la diversidad de maíz en la Amazonía peruana. En: Chávez-Servia, J. L., Sevilla-Panizo, R. (eds.). *Fundamentos genéticos y socioeconómicos para analizar la agrobiodiversidad en la región de Ucayali*. Seminario. (2003, ene 16: Pucallpa). *Biodiversity International/INIA/CODESU*, 2006. 93 p. ISBN-10: 92-9043-738-3, ISBN-13: 978-92-9043-738-3.

- 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).
- CIB-(1905), Reglas de nomenclatura botánica propuestas en el Congreso de Viena de 1905 By: Congreso Internacional de Botánica (2.º 1905. Viena, Austria)
Publication info: Barcelona : [s.n.] (A. López Robert, impresor. Calle del Conde del Asalto, 63) 1907
- Coltman D.W., D.W. Bowen y J.M. Weith. (1996). PCR primers for harbour seal (*Phoca vitulina concolour*) microsatellites amplify polymorphic loci other pinniped species. *Molecular Ecology* 5:161-1"
- Couto, E. G. D. O., Davide, L. M. C., Bustamante, F. D. O., Pinho, R. G. V., & Silva, T. N. (2013). Identification of haploid maize by flow cytometry, morphological and molecular markers. *Ciência e Agrotecnologia*, 37(1), 25-31.
- Doebley, J. (1990). Molecular evidence and the evolution of maize. *Econ. Bot.*, 44: 6-27.
- Doebley, J. F., & Iltis, H. H. (1980). Taxonomy of *Zea* (Gramineae). I. A subgeneric classification with key to taxa. *American Journal of Botany*, 982-993.
- Doebley, J., Goodman, M., & Stuber, C. (1984). Isozyme variation in *Zea* (Graminea). *Syst. Bot.* 9 , 203-218.
- Doebley, J., Stec, A., Wendel, J. & Edwards, M. 1990. Genetic and morphological analysis of a maize-teosinte F2 population: implications for the origin of maize. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 87: 9888-9892.
- Española, R. A. (1952). Real academia española. Link <http://dle.rae.es/?w=diccionario>.
- Espinal T., L. (1985). Geografía Ecológica del Departamento de Antioquia (Zonas de Vida (Formaciones Vegetales) del Departamento de Antioquia). *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 38(1), 5-106.
- FAO (2016) Biotecnología: repercusiones en los países en desarrollo link <http://www.fao.org/docrep/U3550t/u3550t0j.htm>
- FENALCE (2016). Producción de maíz en Colombia primer semestre de 2016 y proyección 2017 Acceso 25 de Julio (2015) <http://www.fenalce.org/nueva/pg.php?pa=19>
- Fernández Distel, A., Cámara Hernández, J., & Miente Alzogaray, A. M. (1995). Estudio del maíz (*Zea mays* Spp. Mays) arqueológico de Huachichocana II, provincia de Jujuy, noroeste de la Argentina. *Relaciones de la Sociedad Argentina de Antropología*, 20.

- Galinat, W.C. (1988). The origin of corn. In G.F. Sprague & J.W. Dudley, eds. Corn and corn improvement, p. 1-31. Madison, WI, USA, American Society of Agronomy.
- Galinat, W.C. (1995). El origen del maíz: el grano de la humanidad - The origin of maize: grain of humanity. *Econ. Bot.*, 49: 3-12
- Galinat, W.C. (1988). The origin of corn. In G.F. Sprague & J.W. Dudley, eds. Corn and corn improvement, p. 1-31. Madison, WI, USA, American Society of Agronomy
- Goldstein DB, Provan J, Soranzo N, Wilson NJ, and Powell W (1997) A low mutation rate for chloroplast microsatellites. *Genetics* 153: 943-178.
- Goldstein DB, Schlötterer C (1999). *Microsatellites: Evolution and applications*. Oxford University Press, New York; p352."
- Goodman, M.M. (1988). The history and evolution of maize. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.*, 7: 197-220
- Granados, G., Pandey, S. & Ceballos, H. (1993). Response to selection for tolerance to acid soils in a tropical maize population. *Crop Sci.*, 33: 936-940.
- Gupta M., Y.S. Chyi, J. Romero-Severson y J.L. Own. (1994). Amplification of DNA markers from evolutionary diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theoretical. Applied Genetics* 89:998-1006
- Hallauer, A. R., Miranda Filho, J. B., & Carena, M. J. (2010). Germplasm. In *Quantitative Genetics in Maize Breeding* (pp. 531-576). Springer New York.
- Hantula, J.; Dusabenyagasani, M.; Hamelin, R. C. (1996). Random Amplified Microsatellites (RAMS) a novel method for characterizing genetic variation within fungi. *Eur J. Pathol.* 26:159–166
- Harlan, J. R., & de Wet, J. M. (1971). Toward a rational classification of cultivated plants. *Taxon*, 509-517.
- Headquarters, F., & Guasca, C. (2014). Renewal of remembrance on corn culture community education El Carmen, San Francisco headquarters, county Guasca. *Bio-Grafía - Escritos Sobre La Biología Y Su Enseñanza*, Vol. 7-N(ISSN 2027-1034), p.p. 143-148
- Hedrick PW (2005). *Genetics of populations*. Jones and Bartlett Publishers, Inc. Londres."
- Hernandez Xolocotzi, E., & Alanis Flores, G. (1970). Estudio morfológico de cinco nuevas razas de maíz de la Sierra Madre Occidental de México; implicaciones filogenéticas y fitogeográficas (No. REP-4126. CIMMYT.).

- Hernández, G. N., Contreras, R. F., Gómez, M. D. R. T., & Gómez, A. Z. (2012). Híbridos de maíz para la producción de forraje con alta digestibilidad en el norte de México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 39(2).
- ICA. (1991). RESOLUCIÓN 3414 DE 1991 (Octubre 1º) "Por la cual se reglamenta la Resolución 408 de 1981, sobre la entrega de recursos germoplásmicos para el fomento de la producción de materiales mejorados por la empresa privada"
- Ittis, H.H. (1983). From teosinte to maize: the catastrophic sexual transmutation. *Science*, 222: 886-894.
- 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.
- Kuleshov, N.N. (1929). The geographical distribution of the varietal diversity of maize in the world. *Bull. Appl. Bot. Genet. Plant Breed.* 20:425-510.
- Lagunes-Espinoza, L. D. C., López-Upton, J., García-López, E., Jasso-Mata, J., Delgado-Alvarado, A., & García de Los Santos, G. (2012). Diversidad morfológica y concentración de proteína de *Lupinus* spp. en la región centro-oriental del estado de Puebla, México. *Acta botánica mexicana*, (99), 73-90.
- Lia, V. V. (2004). Diversidad genética y estructura poblacional en razas nativas de maíz (*Zea mays* ssp. *mays*) del Noroeste Argentino: presente y pasado del germoplasma autóctono (Doctoral dissertation, Ph. D. thesis, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina).
- Longley, A.E. (1941). Chromosome morphology in maize and its relatives. *Bot. Rev.*, 7: 263-289.
- Mangelsdorf, P.C. & Reeves, R.G. (1959). The origin of corn. III. Modern races, the product of teosinte introgression. *Bot. Mus. Leafl. Harv. Univ.*, 18: 389-411
- Mangelsdorf, P.C. (1986). The origin of corn. *Sci. Am.*, 255(2): 72-78
- Marshall DR, Brown AHD (1975). Optimum sampling strategies in genetic conservation. In: Frankel, OH. And Hawkes JG. (eds). *Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow*. Cambridge Univ. Press.
- Martínez, E., Tirado, J. F., Cerón-Muñoz, M. F., Moreno, M., Montoya, A., Corrales, J. D., & Calvo, S. J. (2009). Caracterización genética del búfalo Murrah en Colombia usando marcadores microsatélite. *Livestock Research for Rural Development*, 21(1).
- McClintock, B. (1978). Development of the maize endosperm as revealed by clones. pp 217-237

- McClintock, B., Kato, Y.T.A. and Blumenschein, A. (1981). Chromosome Constitution of Races of Maize. Its Significance in the Interpretation of Relationships Between Races and Varieties in the Americas. Colegio de Posgraduados, Chapingo, Mexico.
- Mena, L., Bethel, M., Hinojosa Rodríguez, M., Ayala Garay, Ó. J., Castillo González, F., & Mejía Contreras, J. A. (2012). Perspectivas de desarrollo de la industria semillera de maíz en México. *Revista fitotecnia mexicana*, 35(1), 1-7.
- Miranda, J.B. (1985). Breeding methodologies for tropical maize. In A. Brandolini & F. Salamini, eds. *Breeding strategies for maize production improvement in the tropics*, p. 177-206. Rome, FAO, Florence, Italy, Istituto Agronomico per L'Oltremare
- Pedraza Gilsanz, J., (1996). *Geomorfología. Principios, métodos y aplicaciones*. Editorial Rueda. Madrid. España. 414 pp
- Perales, H., & Golicher, D. (2014). Mapping the Diversity of Maize Races in Mexico. *PLoS one*, 9(12), e114
- Piazzini Suárez, Carlos Emilio. (2015). Historiografía de la arqueología en Colombia. Una aproximación geográfica. *Revista Colombiana de Antropología*, 51(2), 15-48. Retrieved March 31, 2017, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0486-65252015000200002&lng=en&tlng=es
- Poggio, L., Rosato, M., Chiavarino, A. M., & Naranjo, C. A. (1998). Genome size and environmental correlations in maize (*Zea mays* ssp. *mays*, Poaceae). *Annals of Botany*, 82(suppl 1), 107-115.
- Redden, R., Yadav, S. S., Maxted, N., Dulloo, M. E., Guarino, L., & Smith, P. (Eds.). (2015). *Crop wild relatives and climate change*. John Wiley & Sons.
- Revelo Portilla, Ediel Armando; CARDOZO CONDE, Carlos Iván; CAETANO, Creucí María.(2015) Estudio molecular preliminar de accesiones de maíz (*Zea mays* L.) criollo e indígena colombiano utilizando una región de ADN cloroplástico. *Acta Agronómica*, [S.l.], v. 64, n. 1, p. 72 - 82, jan. 2015. ISSN 2323-0118.
- 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."
- Robinson, H F; Comstock, R E; Harvery, PH. (1951). Genotypic and phenotypic correlation in corn and their implication in selection. *Agron. J.* 43:282-287.

- Rodríguez-Zabala, J., González, R., Correa, M. M., & Gómez, G. F. (2016). Análisis morfométrico de dos poblaciones de *Anopheles calderoni* (Diptera: Culicidae) del suroccidente colombiano. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87(3), 966-971.
- Souza, S., Carpentieri-Pipolo, V., Fátima, C., Carvalho, V., Ruas, M., & Gerage, C. (2008). Comparative Analysis of Genetic Diversity Among the Maize Inbred Lines (*Zea mays* L.) obtained by RAPD and SSR Markers. *Brazilian Archives of Biology and Technology* (1), 183-192
- Stansfield W.D. (1992). *Genética*. McGraw- Hill, México
- Tetreault, D. V., López, L., & Federico, C. (2011). Diversidad biocultural en el estado de Jalisco: Pueblos indígenas y regiones de alto valor biológico. *Espiral* (Guadalajara), 18(51), 165-199.
- Tosquy, O. H.; Vásquez, A.; López, V. O. (2001). Rendimiento de grano y principales características agronómicas de cultivares de maíz en el sur de Veracruz, México. In: R. Araya; N. Chaves (comp.). *Resúmenes de la XLVII Reunión Anual del PCCMCA*. San José, Costa Rica. p.57.
- Tosquy Valle, O. H., Palafox Caballero, A., Sierra Macias, M., Zambada Martinez, A., Martinez Morales, R., & Granados Reinaut, G. (2005). Comportamiento agronómico de híbridos de maíz en dos municipios de Veracruz, México.
- USADA,(2017), Weekly weather and crop bulletin,u.s. Department of commerce National Oceanic and Atmospheric Administration National Weather Service,Volume 04, No. 13 , March 28, 2017 , <http://www.usda.gov/oce/weather>
- Wellhausen, E. J., Roberts, L. M., Hernandez, X., & Mangelsdorf, P. C. (1952). Races of maize in Mexico. Their origin, characteristics and distribution. *Races of maize in Mexico. Their origin, characteristics and distribution*.
- Wilkes, H.G. (1985). Teosinte: the closest relative of maize revisited. *Maydica*, XXX: 209-223
- Wilkes, H.G. (1989). Maize: domestication, racial evolution and spread. In D.R. Harris & G.C. Hillman, eds. *Forage and farming*, p. 440-454. London, Unwin Hyman
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. *Genomics* (20) , 176-183.