

## Tesis Doctoral

# Caracterización genética del germoplasma de razas de maíz autéctonas provenientes del noreste argentino

Bracco, Mariana

2012-11-13

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Bracco, Mariana. (2012-11-13). Caracterización genética del germoplasma de razas de maíz autóctonas provenientes del noreste argentino. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Bracco, Mariana. "Caracterización genética del germoplasma de razas de maíz autóctonas provenientes del noreste argentino". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2012-11-13.

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales  
Departamento de Ecología, Genética y Evolución

# **Caracterización genética del germoplasma de razas de maíz autóctonas provenientes del noreste argentino**

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de  
Buenos Aires en el área **CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**Lic. Mariana Bracco**

Director de tesis: Dra. Alexandra M. Gottlieb

Director Asistente: Dra. Verónica V. Lia

Consejero de Estudios: Dra. Viviana A. Confalonieri

Laboratorio de Citogenética y Evolución.  
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 2012.

# Caracterización genética del germoplasma de razas de maíz autóctonas provenientes del noreste argentino

## Resumen

El maíz, *Zea mays* ssp. *mays*, se cultiva en todo el mundo y ocupa el tercer lugar entre los destinados al consumo alimentario. La Argentina es el segundo exportador mundial, precedida por los Estados Unidos. Esto coloca a la producción de maíz como una de las actividades económicas más rentables para nuestro país. En el norte de la Argentina habitan comunidades aborígenes que cultivan razas nativas de maíz. La caracterización genética del germoplasma autóctono de las razas de la región noreste de la Argentina (NEA) ha sido prácticamente nula hasta la concreción de esta Tesis. Con el fin de aportar al conocimiento de la diversidad genética y la estructura poblacional de las razas nativas del NEA, contribuir a su conservación y evaluar su potencial como reservorio de nuevos alelos, se evaluaron 15 *loci* microsatélites nucleares en 572 individuos. Los resultados del presente estudio permiten concluir que: 1) las razas de Misiones se encuentran constituidas por acervos génicos diferentes, que concuerdan con el tipo de grano que poseen (harinosos y córneo-harinosos vs. reventadores), éstos deberían ser considerados como unidades de conservación diferentes; 2) las razas nativas del NEA constituyen una reserva de diversidad significativa, con potencial para ampliar la base genética de los programas de fitomejoramiento; 3) las razas de Misiones no parecen haber sufrido un proceso de erosión genética severo en tiempos recientes, ya que los ejemplares actuales conservan gran parte de la diversidad detectada en las colecciones del NEA de los años 1977 y 1978; 4) la comparación entre las razas del NEA y del NOA apoyan la existencia de dos centros de diversidad diferentes en Sudamérica; la comparación con otras razas del Continente Americano avala la hipótesis de ocurrencia de una vía de introducción del germoplasma nativo del NEA a través del este de Sudamérica; 5) la ausencia de cromosomas B en las razas del NEA coincide con la constitución cromosómica esperada para el grupo de las razas de regiones bajas.

**Palabras clave:** razas nativas de maíz - caracterización poblacional - variabilidad microsatélite - diversidad genética - noreste argentino.

## Genetic characterization of maize landraces germplasm from Northeastern Argentina

### Abstract

*Zea mays* ssp. *mays* is cultivated worldwide and ranks third in importance among crops for human consumption. Argentina is the second largest exporter, preceded by the United States. Corn production is one of the most profitable economic activities in our country. Northern aboriginal communities from Argentina cultivate maize landraces for self-sufficiency. Genetic characterization of indigenous germplasm from the northeastern region of Argentina (NEA) was practically nil until the completion of this Thesis. To contribute to the knowledge and conservation of the genetic diversity of native maize landraces from NEA and to assess their potential as a reservoir of novel alleles, 572 individuals were evaluated using 15 nuclear microsatellite loci. The results of this study allow to conclude that: 1) landraces from Misiones can be divided into two different gene pools, which are consistent with the type of corn (flints and flours vs. popcorns), these should be regarded as different conservation units; 2) NEA landraces represent a significant reservoir of diversity, useful to broaden the genetic base of breeding programs; 3) landraces from Misiones do not seem to have undergone a severe genetic erosion in recent times, since much of the extant diversity is detected in NEA seed bank collections from 1977-1978; 4) the comparison between landraces from NEA and NOA support the existence of two different centers of diversity in South America; the comparison with other races of the Americas supports the hypothesis of the introduction of NEA germplasm through eastern South America; 5) the absence of B chromosomes in NEA landraces agrees with the expected chromosomal constitution of the landraces from lowland South America.

**Keywords:** maize landraces - population structure- microsatellite variability - genetic diversity - northeastern Argentina.

***A mis dos amores, Emma y Leandro.***

***Por ser mi mundo, por haberme  
enseñado a amar...***

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Alexandra Gottlieb por todo lo que me enseñó en estos años, por la infinita paciencia, comprensión y tantas horas compartidas. A la Dra. Verónica Lia por brindarme sus conocimientos con tanta humildad, por su dedicación e incentivación. Les agradezco especialmente su cariño y todos los lindos momentos compartidos.

A la Dra. Gottlieb le agradezco por haberme dado la posibilidad de dar mis primeros pasos en la investigación hace ya casi diez años.

A la Dra. Lidia Poggio por su generosidad, confianza y apoyo. Por haberme dado un lugar en su laboratorio.

Al Ing. Agr. Julián Cámara Hernández por haber sido tan gentil conmigo, por brindarme todos sus conocimientos acerca del maíz y su amor por las razas nativas. Le agradezco por esas charlas tan interesantes. Por obsequiarme sus increíbles publicaciones de las razas nativas de maíz y sus tan codiciadas acuarelas.

A Jimenita por compartir sus días y cerebro conmigo. Por su colaboración e importante aporte a este trabajo. Muchas gracias!

Al Banco de Germoplasma de la EEA INTA Pergamino por haberme cedido tan gentilmente sus colecciones originales de maíces del NEA para realizar este trabajo.

A cada uno de mis compañeros del LaCyE, a los que hay pasado y a los actuales, por compartir mis largos días de laboratorio, algunos productivos y otros no tanto, siempre levantándome el ánimo, por todas las charlas y preguntarme siempre por la Tesis. En especial a Gra y las Flores por ayudarme con los cromosomas de maíz.

A Leandro, por haberme dado a Emma, luz de nuestros ojos. Por su amor, compañía y comprensión en los buenos y malos momentos. A Emma, nuestra princesita, por llenar nuestros días de vida y amor puro.

A mis papás, por su amor infinito, por enseñarme a vivir la vida de la mejor manera posible y transmitirme sus valores. A mis hermanos Sil y Juan por estar siempre presentes, por cuidarme y mimarme todo el tiempo: los amo. A Maxi y Jesi por los lindos momentos que compartimos. A la familia Citate por el apoyo incondicional de

siempre. A todos ellos les estaré eternamente agradecida por cuidar con tanto amor a Emma en mi ausencia durante el desarrollo de esta Tesis.

A Martín, Justi, Simón, Pedrito e Isabella, mis sobrinos amados, por hacerme disfrutar de la vida. Los quiero con todo el corazón.

A Juli, por cuidar a mi tesoro maspreciado, darle tanto amor y dedicación (paseos a la plaza, en calesita, golosinas, helados, etc). Por hacerla disfrutar y reir cada día.

A mis amigos de siempre, del corazón, en especial a Marisol, por compartir los buenos y no tan buenos momentos de mi vida y tener siempre la palabra justa.

A los amigos incondicionales que me conocí durante la carrera, Sabi, Sole y Fede, aunque no nos veamos seguido siempre puedo contar con ellos. Un GRACIAS especial para Chechi, Lu, Liditas, Laura, Marce, Emi, Jessica por todo el tiempo lindo compartido. Los quiero mucho...

Al CONICET, a la Universidad de Buenos Aires y a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica por financiar este proyecto y a esta becaria.

## INTRODUCCIÓN

---

<b>I1.El Género Zea (Poaceae)</b> .....	<b>1</b>
I1.1. Taxonomía .....	1
<b>I2. El maíz- Zea mays ssp. mays</b> .....	<b>2</b>
I2.1. Morfología de la planta.....	2
I2.2. Origen y diversificación .....	4
I2.3. Registro arqueológico .....	7
<b>I3. Las razas de maíz del Continente Americano</b> .....	<b>9</b>
I3.1. Diversidad morfológica.....	9
I3.2. Diversidad genética.....	11
I3.3. Variabilidad cromosómica .....	12
I3.3.1 Cromosomas supernumerarios .....	13
I3.3.2. Heterocromatina.....	13
<b>I4. Las razas de maíz en la Argentina</b> .....	<b>14</b>
I4.1. Centros de diversidad .....	14
I4.1.1. Diversidad morfológica.....	15
I4.1.2. Diversidad genética.....	16
I4.1.3. Variabilidad cromosómica: contenido de ADN, heterocromatina y cromosomas supernumerarios.....	17
I4.2. Las comunidades aborígenes y el cultivo del maíz: importancia socio- económica y cultural.....	18
I4.3. Conservación <i>ex-situ</i> .....	19
I4.4. Producción actual de maíz en el mundo .....	20
<b>I5. Objetivos</b> .....	<b>22</b>
<b>Objetivos particulares</b> .....	<b>22</b>

## MATERIALES Y MÉTODOS

---

<b>M1. Material vegetal</b> .....	<b>23</b>
M1.1. Razas nativas de Misiones.....	23
M1.2. Razas nativas del Banco de Germoplasma INTA-Pergamino .....	26
M1.3. Razas nativas del noroeste argentino .....	28
M1.4. Otras razas nativas del Continente Americano .....	29
<b>M2. Métodos experimentales</b> .....	<b>30</b>



M2.1. Germinación.....	30
M2.2. Extracción y cuantificación del ADN genómico total.....	31
M2.3. Selección de <i>loci</i> microsatélites.....	31
M2.4. Amplificación y visualización de los productos de PCR .....	33
M2.5. Electroforesis en geles de poliacrilamida .....	34
M2.6. Tinción con Nitrato de Plata .....	34
<b>M3. Análisis de la diversidad .....</b>	<b>35</b>
M3.1. Cálculo de las frecuencias alélicas.....	35
M3.2. Estimadores de diversidad genética.....	35
M3.3. Análisis de la estructura poblacional .....	36
M3.3.1. Equilibrio de Hardy-Weinberg.....	36
M3.3.2. Análisis de diferenciación genética entre poblaciones .....	37
M3.3.3. Análisis de la varianza molecular .....	39
M3.3.4. Análisis de correlación entre distancias genéticas y geográficas .....	39
M3.3.5. Poder discriminante de los <i>loci</i> microsatélites .....	40
<b>M4. Análisis de agrupamiento.....</b>	<b>40</b>
M4.1. Método basado en distancia genética.....	40
<b>M5. Análisis de la estructura poblacional en base al método bayesiano .....</b>	<b>40</b>
<b>M6. Método de distancias genéticas entre individuos.....</b>	<b>41</b>
<b>M7. Estudios cromosómicos.....</b>	<b>42</b>
M7.1. Obtención y fijación de raíces primarias.....	42
M7.2 Tinción cromosómica y microscopía .....	42

## RESULTADOS

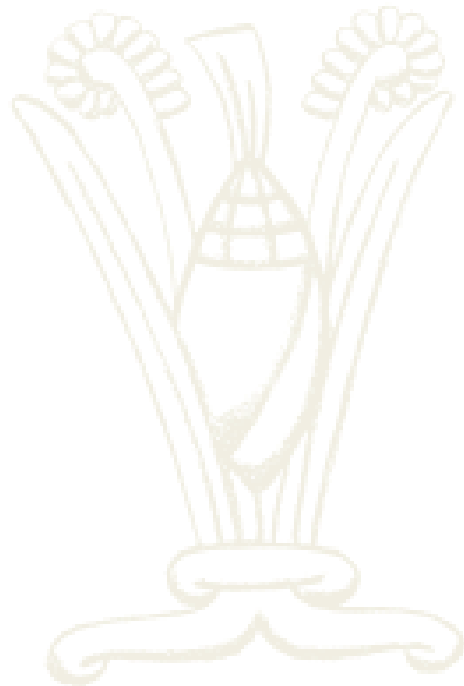
---

<b>R1. Caracterización genética de razas nativas de maíz de Misiones .....</b>	<b>43</b>
R1.1. Variabilidad.....	43
R1.2. Estructura poblacional .....	55
R1.2.1. Equilibrio de Hardy-Weinberg.....	55
R1.2.2. Diferenciación genética .....	57
R1.2.3. Análisis de la Varianza Molecular .....	59
R1.2.4. Análisis de genotipos multilocus individuales .....	59
R1.3. Análisis de agrupamiento poblacional .....	62

<b>R2. Caracterización genética de razas nativas de maíz del NEA conservadas en el Banco de Germoplasma EEA INTA Pergamino. ....</b>	<b>65</b>
R2.1. Variabilidad.....	65
R2.2. Análisis de genotipos multilocus individuales .....	67
<b>R3. Análisis de las razas de maíz del NEA.....</b>	<b>69</b>
<b>R4. Razas del NEA y su relación con las razas del NOA y otras razas del Continente Americano .....</b>	<b>71</b>
R4.1. Variabilidad genética de las razas del NEA y NOA.....	71
R4.2. Análisis de la Varianza Molecular.....	72
R4.3. Análisis de agrupamiento poblacional .....	73
R4.4. Análisis de genotipos multilocus individuales: razas del NEA, NOA y otras razas del Continente Americano .....	75
<b>R5. Estudios cromosómicos .....</b>	<b>79</b>
 <b>DISCUSIÓN</b>	
<hr/>	
<b>D1. Diversidad genética.....</b>	<b>80</b>
<b>D2. Distribución de la variabilidad genética .....</b>	<b>84</b>
D2.1. Estructura genética intrapoblacional.....	84
D2.2. Diferenciación genética entre poblaciones .....	85
<b>D3. Las razas de maíz de Misiones y su relación con las razas del Banco de Germoplasma INTA-Pergamino .....</b>	<b>88</b>
<b>D4. Las razas del NEA y su relación con las razas del NOA y otras razas del Continente Americano .....</b>	<b>89</b>
<b>D5. Rutas de dispersión del maíz .....</b>	<b>91</b>
<b>D6. Cromosomas supernumerarios.....</b>	<b>92</b>
 <b>CONCLUSIONES</b>	 <b>95</b>
<hr/>	
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>96</b>
<hr/>	
<b>APÉNDICE</b>	<b>109</b>
<hr/>	
Protocolo de extracción de ADN: Dellaporta et al. (1983) modificado.....	109

Soluciones.....	110
Electroforesis en geles de agarosa .....	110
Electroforesis en geles de poliacrilamida .....	110
Técnica citogenética.....	111
Frecuencias alélicas.....	112
Distancia geográfica entre aldeas .....	125

# INTRODUCCIÓN



## I1.El Género *Zea* (Poaceae)

### I1.1. Taxonomía

El género *Zea* L. pertenece a la familia Poaceae y está compuesto por un conjunto de gramíneas anuales y perennes nativas de México y América Central. El género incluye especies y subespecies silvestres, conocidas comúnmente como “teosintes”, y al maíz (*Z. mays* L. ssp. *mays* Iltis & Doebley) como única forma cultivada.

La clasificación taxonómica del género *Zea* ha ido cambiando con el tiempo. En un principio, el primer ordenamiento se basó en caracteres de la morfología externa resultantes de la selección artificial ejercida por los humanos durante el proceso de domesticación (Mangelsdorf *et al.*, 1964; Wilkes, 1967; Harshberger, 1986). Este ordenamiento consistió en la diferenciación de dos secciones: *Euchlaena* que incluía a todos los teosintes, y por otra parte la sección *Zea* que sólo incluía al maíz.

Posteriormente Iltis y Doebley (1980), Doebley (1990a) e Iltis y Benz (2000) elaboraron una clasificación para el género *Zea* en base a las inflorescencias masculinas de las plantas, considerada por dichos autores como una estructura no afectada por la selección humana. El resultado fue la división de este género en dos secciones: *Zea* y *Luxuriantes*, reemplazando esta última a la sección *Euchlaena*. Esta clasificación taxonómica es la actualmente válida. La sección *Luxuriantes* incluye cuatro especies silvestres: *Zea diploperennis* Iltis, Doebley & Guzmán, *Z. perennis* (Hitchc.) Reeves & Mangelsdorf, *Z. luxurians* (Durieu & Ascherson) Bird y *Z. nicaraguensis* Iltis & Benz. La sección *Zea* contiene solamente a la especie *Z. mays* con sus cuatro subespecies: *Z. mays* ssp. *mexicana* (Schrader) Iltis, *Z. mays* ssp. *parviglumis* Iltis & Doebley, *Z. mays* ssp. *huehuetenangensis* (Iltis & Doebley) Doebley y *Z. mays* ssp. *mays*.

Las especies comprendidas en la sección *Luxuriantes* son plantas perennes y anuales. Así, *Z. diploperennis* y *Z. perennis* poseen un ciclo de vida perenne y crecen principalmente en Jalisco, México. En cambio, *Z. luxurians* y *Z. nicaraguensis* son de ciclo anual y su crecimiento se da en el sudeste de Guatemala y Nicaragua, respectivamente.

Por su parte, todas las subespecies de la sección *Zea* son de ciclo anual (Doebley & Iltis 1980; Iltis & Benz 2000). La subespecie *mexicana* crece en el altiplano central de México, mientras que la subespecie *huehuetenangensis*, se encuentra en las tierras altas del oeste de Guatemala y la subespecie *parviglumis* se desarrolla en los valles de los ríos del sudoeste mexicano (Doebley & Iltis, 1980; Iltis & Doebley, 1980; Iltis & Benz, 2000). Por último, la subespecie *mays* por tratarse de la forma cultivada, presenta actualmente una distribución cosmopolita.

## **12. El maíz- *Zea mays* ssp. *mays***

### **12.1. Morfología de la planta**

El maíz es una planta de tallos macizos en forma de caña, a diferencia del resto de los miembros de la familia Poaceae que los poseen huecos, pudiendo alcanzar una altura de uno a cinco metros.

Se trata de una planta diclino-monoica que desarrolla inflorescencias con flores masculinas y femeninas bien diferenciadas (**figura 11**). La inflorescencia masculina (**panoja** o **panícula**) es siempre terminal y consta de un eje central a lo largo del cual se distribuyen los pares de espiguillas de forma polística (es decir, con varias hileras de pares de espiguillas), éstas a su vez contienen las flores estaminadas (masculinas). Las inflorescencias femeninas (**espigas**) se localizan en las yemas axilares de las hojas y consisten de un raquis central donde se insertan las espiguillas de a pares. Cada espiguilla del par alberga dos flores pistiladas, una fértil y otra abortiva, ubicadas formando hileras paralelas.



**Figura I1.** Morfología de la planta de maíz.

Típicamente, una mazorca madura puede contener alrededor de 400 a 1000 granos, o cariopses, generalmente dispuestos en 8 a 24 hileras. El grano de maíz es un fruto seco, indehisciente, en cuyo interior se encuentra la semilla endosperma. La composición y propiedades fisicoquímicas del pericarpio y endosperma de los granos determinan, entre otras características, su color, textura, tamaño y contenido de nutrientes, atributos que han tenido gran relevancia durante el proceso de domesticación mediado por las antiguas etnias americanas (Kato *et al.*, 2009).

El maíz es principalmente una planta de fecundación cruzada, anemófila, característica que ha contribuido a incrementar su variabilidad morfológica y adaptabilidad geográfica.

## 12.2. Origen y diversificación

A nivel mundial, una de las zonas con mayor diversidad biológica y cultural es México y sus regiones aledañas (Bye, 1993; Toledo, 1993). Es allí donde los diferentes grupos étnicos iniciaron el proceso de domesticación de las principales especies americanas utilizadas en la agricultura moderna, mediante la selección y reducción de la diversidad genética contenida en sus parientes silvestres (Olsen & Gross, 2008; Vigouroux *et al.*, 2008). En particular, el cultivo del maíz está indisolublemente ligado al surgimiento y la evolución de esas civilizaciones mesoamericanas precolombinas. Se postula que tuvo su origen y diversificación inicial en las montañas y valles de México, por la intervención de los antiguos pobladores de ese territorio.

Desde finales del siglo XIX, el origen y la diversificación del maíz ha sido un tema de gran interés y de acalorados debates entre los botánicos especialistas. Uno de los aspectos más difíciles de dilucidar se basa en que el maíz no parecía presentar asociación con ninguna especie silvestre que pudiera ser considerada como su ancestro, contrariamente a lo que ocurría con otras especies de cereales (Doebley, 1990b). Se han postulado varias hipótesis para explicar cómo se originó el maíz. Una de las más influyentes fue la teoría tripartita (sic.) propuesta por Mangelsdorf (1974) y Mangelsdorf y Reeves (1939). Ésta postulaba la existencia de un “maíz silvestre”, actualmente extinto o desconocido, que habría dado lugar a la variante domesticada, basando sus fundamentos en la magnitud de las diferencias morfológicas entre ambas entidades. Sin embargo, la teoría tripartita fue desacreditada a finales de la década del 70, cuando la hipótesis del origen del maíz basada en la evolución del teosinte ganó consenso entre los científicos (Beadle, 1980; Doebley, 1990b; Matsuoka *et al.*, 2002a; Doolittle & Mabry, 2006).

Actualmente existen dos hipótesis alternativas para explicar el origen y diversificación del maíz. Una de ellas manifiesta que este cereal tuvo un origen multicéntrico, es decir que se habría originado en forma recurrente a partir de distintas poblaciones de teosinte, conservando así gran parte de la diversidad presente en sus progenitores (McClintock, 1978; McClintok *et al.*, 1981; Kato, 1984; 2005). Estos autores se basaron en los resultados de un amplio estudio de la morfología de los cromosomas paquiténicos. Especialmente se focalizaron en la constitución de “nudos” cromosómicos (*knobs*) de los maíces y teosintes del



Continente Americano, detectándose cinco centros de domesticación. Sin embargo, en las últimas dos décadas, la contribución de datos genéticos de marcadores moleculares posibilitó realizar importantes avances acerca del origen y domesticación del maíz. Es así que se formuló una segunda hipótesis acerca de su origen, la cual propone un único evento de domesticación (*hipótesis unicéntrica*) a partir de poblaciones de la subespecie *parviglumis* (Doebley *et al.*, 1986; 1987a; Doebley, 1990b; Matsuoka *et al.*, 2002a; Fukunaga *et al.*, 2005; Vigouroux *et al.*, 2008), siendo en la actualidad ésta hipótesis la más aceptada. Estudios taxonómicos y filogenéticos basados en el análisis de datos isoenzimáticos y de marcadores del ADN cloroplastídico, detectaron evidencias que apoyan fuertemente la hipótesis del teosinte *Zea mays* ssp. *parviglumis* como ancestro del maíz, o como la entidad biológica más cercana (Doebley *et al.*, 1987b; Doebley, 1990b). Si bien bajo esta hipótesis se esperaría que el maíz presentara bajos niveles de variabilidad genética, Doebley *et al.* (1986) explicaron los altos niveles que éste posee debido a un incremento en la tasa de evolución del maíz como consecuencia de la intervención del hombre y de la selección artificial. Asimismo, la introgresión de variantes alélicas provenientes de los teosintes ha sido otra de las justificaciones empleadas para explicar el patrón antes mencionado (Doebley, 1990c). Las evidencias aportadas por diversos estudios posteriores, que emplearon datos de marcadores moleculares, contribuyeron a consolidar la hipótesis del origen único (Matsuoka *et al.*, 2002a; Fukunaga *et al.*, 2005; Vigouroux *et al.*, 2008). Uno de los trabajos más destacados es el de Matsuoka *et al.* (2002a) quienes realizaron un análisis filogenético basado en datos obtenidos a partir de 99 *loci* microsatélites de maíces del Continente Americano y de los teosintes mexicanos y guatemaltecos. Estos autores concluyeron que el maíz se habría originado por un evento único, a partir del teosinte *parviglumis*, en la Cuenca del Río Balsas. En un estudio similar realizado por Fukunaga *et al.* (2005) utilizando 93 *loci* microsatélites en 172 muestras de diferentes teosintes de México y Nicaragua, se encontró que el 48% de las plantas de la subespecie *parviglumis* contienen al menos un 25% del germoplasma de maíz. Estos datos fueron interpretados como una consecuencia del origen reciente del maíz a partir del teosinte mencionado. Posteriormente, Vigouroux *et al.* (2008) estudiaron 96 *loci* microsatélites en 964 plantas individuales que representan 310 razas nativas de maíz del Continente Americano. Sus resultados les permitieron corroborar la hipótesis del evento único de domesticación en el área

geográfica definida por Matsuoka *et al.* (2002a). Más recientemente, van Heerwaarden *et al.* (2011) analizaron 964 marcadores SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) para un total de 100 entradas de *parviglumis*, 96 de *mexicana* y 1.127 entradas de razas de maíz, abarcando de esta manera casi la totalidad de las 350 razas que se conocen para todo el Continente Americano (Goodman & Brown, 1988). Los resultados obtenidos por estos autores coinciden con la hipótesis del evento único, siendo consistentes con todos los datos ecológicos, arqueológicos y genéticos evaluados hasta el momento (van Heerwaarden *et al.*, 2011).

En síntesis, las evidencias bioquímicas y moleculares registradas hasta la fecha proponen al teosinte *parviglumis* como antecesor del maíz y sitúan al lugar geográfico de origen de este cereal en el valle de los Ríos Balsas y Lerma en el sudoeste mexicano (Doebley, 1990a; Matsuoka *et al.*, 2002a, Vigouroux *et al.*, 2008, van Heerwaarden *et al.*, 2011).

Paradójicamente, los cultivares de maíz más estrechamente relacionados con el teosinte del valle del Río Balsas se encuentran principalmente en las tierras altas de México donde la subespecie *parviglumis* no es capaz de crecer. Sin embargo, los resultados encontrados por van Heerwaarden *et al.* (2011) permitieron resolver esta contradicción. Los autores demostraron que las evidencias genéticas encontradas en estudios previos, acerca del aparente origen del maíz en las tierras altas, son mejor explicadas por la ocurrencia de flujo génico desde la ssp. *mexicana*, la cual sí crece en las alturas. Además, destacan que la mezcla con este pariente silvestre habría interferido con los análisis de comparaciones directas con su supuesto ancestro, la ssp. *parviglumis*.

Una vez surgido en América Central, el maíz se habría diversificado allí hace alrededor de 9.000 años, esparciéndose rápidamente hacia el norte y sur del Continente Americano (Matsuoka *et al.*, 2002a). Al momento de la conquista española, el maíz era intensamente cultivado por los pueblos de los imperios Azteca e Inca (Rebourg *et al.*, 2003). Los colonizadores fueron los encargados de diseminar este cereal desde las Antillas hasta el sur de España, extendiéndose dos siglos más tarde al resto de Europa, Asia y África. De acuerdo a los datos derivados de marcadores isoenzimáticos, el maíz habría migrado hacia América del Norte a través de la región sudoeste de los EE.UU. entre 750 y 500 años antes del presente

(AP), dispersándose luego hacia el centro y este hasta llegar a la región ocupada por Canadá (Doebley *et al.*, 1983).

El patrón de dispersión del maíz en América del Sur ha sido inferido por medio de estudios citogenéticos y moleculares de las razas nativas. Basándose en datos citogenéticos, McClintock *et al.* (1981) propusieron una introducción temprana del maíz en la región de los Andes Centrales (desde Perú hasta la frontera norte de la Argentina y Chile) pasando por América Central, Colombia, Venezuela e islas adyacentes del Caribe. De acuerdo con esta hipótesis, el acervo genético Andino se difundió ampliamente en todas las regiones del Altiplano y se habría mantenido aislado hasta que, en tiempos relativamente recientes, recibieron el aporte de los nuevos genotipos surgidos probablemente a lo largo de la costa este de Brasil. Contrariamente a lo propuesto por McClintock *et al.* (1981), las recientes evidencias moleculares, a partir del análisis de *loci* microsatélites, sugieren que la dispersión del maíz en América del Sur habría ocurrido inicialmente desde las tierras altas hacia el oeste y sur de México, pasando luego por Guatemala, las Islas del Caribe y las tierras bajas de Sudamérica (Brasil), alcanzando la región andina en una etapa más tardía (Matsuoka *et al.*, 2002a). Posteriormente, Oliveira Freitas *et al.* (2003) postularon la ocurrencia de dos expansiones independientes del maíz en Sudamérica, en consonancia con lo propuesto por McClintock *et al.* (op.cit.). La primera expansión habría comprendido una migración desde América Central hacia la región Andina, y la segunda habría ocurrido por las tierras bajas de la costa noreste del Continente.

### **12.3. Registro arqueológico**

El registro arqueológico del maíz en el Continente Americano permite complementar el aporte realizado por los datos morfológicos, citogenéticos, moleculares y bioquímicos en relación a su origen y diversificación.

Hasta la actualidad, hay tres excavaciones consideradas como muy relevantes. Éstas son las llevadas a cabo por MacNeish (1967) en Tehuacán (México), por Flannery (1986) en Oaxaca (México) y por Grobman *et al.* (2012) en los sitios Paredones y Huaca Prieta (Perú).

Los estudios de MacNeish (1967) fueron realizados en las Cuevas de Coxcatlán y San Marcos, en el valle de Tehuacán, México. Los restos arqueológicos encontrados allí fueron considerados durante mucho tiempo representantes de los “maíces silvestres” propuestos por la teoría tripartita (Benz, 1999). Si bien inicialmente fueron datados en 6.000-4.500 años AP, estudios posteriores demostraron que la antigüedad de dichos materiales no superaba los 5.500 años (Benz & Iltis, 1990). A pesar de que muchas de sus características concordaban con rasgos considerados primitivos, un nuevo análisis morfológico de los mismos ejemplares reveló un gran parecido con las razas actuales (Benz & Iltis, 1990).

Los estudios de Flannery (1986) en Guilá Naquitz, en los Valles Centrales de Oaxaca, permitieron a Piperno y Flannery (2001) datar restos de maíz entre 6.250-5.400 años AP, siendo los más antiguos descritos hasta el momento. Pese a que estos ejemplares presentan un desfase de aproximadamente 700 años con respecto a los restos más antiguos de Tehuacán, la diferenciación morfológica entre los individuos de ambos sitios es prácticamente nula (Benz, 2001).

Entre los años 2007 y 2011, Grobman *et al.* (2012) realizaron excavaciones en los sitios Paredones y Huaca Prieta (Perú). Los microfósiles encontrados pusieron en evidencia la larga historia y la diversidad del maíz en la región norte de los Andes peruanos. Estos vestigios recibieron una datación mínima de 6.775-6.504 años AP, indicando un desarrollo temprano de los distintos grupos raciales en esa región. Esta última datación, pasa a ser la más antigua registrada para microfósiles de maíz en América del Sur y demuestra que el maíz de estos dos sitios es prácticamente contemporáneo con los restos más primitivos de microfósiles hallados en México (cueva de Guilá Naquitz; Piperno & Flannery, 2001). Además, por el tamaño de la semilla, la dureza y su capacidad de estallar, los autores establecieron que se trataba de un maíz del tipo reventador. Curiosamente, el maíz arqueológico descrito en Perú es muy diferente en algunos aspectos a los casi contemporáneos descritos en México, sugiriendo que pudo haber sufrido importantes cambios durante su salida de México (Grobman *et al.*, 2012).

A pesar de que el origen del maíz en México y su diversificación inicial hacia el centro y sur del Continente Americano se ha ido esclareciendo gracias a los estudios moleculares y arqueobotánicos, aún quedan interrogantes por resolver. El más relevante es la escasez de información para dilucidar cómo ocurrió la evolución

morfológica temprana del maíz y su diversificación racial en el Continente Americano. Esto ocurre en parte, debido a la mala preservación de los microfósiles que datan de los años anteriores a los 5.000 años AP, particularmente en lo que respecta a las rutas de dispersión situadas en el bosque tropical de Sudamérica.

Actualmente, el cultivo de maíz, tanto sus formas autóctonas como las variedades comerciales, se distribuye a lo largo del Continente Americano. Las plantas poseen capacidad de crecimiento en altitudes que van desde el nivel del mar hasta los 4.000 metros sobre el nivel del mar (Roberts *et al.*, 1957; Brieger *et al.*, 1958; Ramírez *et al.*, 1960; Grobman *et al.*, 1961; Timothy *et al.*, 1961, 1963; Grant *et al.*, 1963). Esta amplia gama de ecosistemas en los cuales el cultivo puede desarrollarse demuestra la gran diversidad genética del mismo. El cultivo de este cereal se extiende además al resto del mundo, siendo la base de la alimentación de gran parte de la población humana.

### **I3. Las razas de maíz del Continente Americano**

#### **I3.1. Diversidad morfológica**

El estudio taxonómico de la variación racial de los maíces de México se inició con los trabajos de Anderson y Cutler (1942) y Anderson (1946), quienes tuvieron en cuenta fundamentalmente caracteres agronómicos. En 1943 se llevó a cabo una recolección exhaustiva de muestras de maíces de todo el territorio mexicano. Para el estudio de dicho material se consideró que “un grupo de individuos relacionados con suficientes características en común que permiten su reconocimiento como un grupo” podrían identificarse como una *raza*, de acuerdo a la definición de Anderson y Cutler (op.cit.). Es así que dicho estudio produjo la primera publicación sobre la variación racial del maíz en México y su distribución geográfica.

Desde entonces y hasta la actualidad, alrededor de 350 razas de maíz han sido descritas en el Continente Americano, en su mayoría provenientes de las zonas de mayor diversidad, es decir México y la región andino-peruana. Los

caracteres más importantes utilizados para la discriminación de formas raciales incluyen la morfología de la mazorca, la arquitectura de la planta, las adaptaciones agro-ecológicas y el origen geográfico de los ejemplares. El estudio de la morfología de la mazorca involucra la determinación de la forma y longitud del raquis, el número de hileras de granos, el espesor y el ancho de los granos, el ancho y la profundidad de las cúpulas, así como también el diámetro del marlo, entre otros caracteres (Sánchez G. *et al.*, 1993).

Wellhausen *et al.* (1951), basándose en la definición de raza propuesta por Anderson y Cutler (1942) y mediante la caracterización de caracteres vegetativos de la planta, la espiga y la mazorca, además de los genéticos y fisiológicos, lograron clasificar las primeras 25 razas mexicanas. Los cuatro grupos formados por estas razas son: I. Razas antiguas indígenas, consideradas como las descendientes de un maíz primitivo de carácter reventador; II. Razas exóticas precolombinas, procedentes de América Central y Sudamérica III. Razas mestizas prehistóricas, resultado del cruzamiento de las anteriores y la introgresión del teosinte; y IV. Razas modernas incipientes, desarrolladas a partir de la conquista española.

En un estudio realizado por Goodman y McBird (1977), utilizando técnicas de taxonomía numérica en un conjunto de 219 razas latinoamericanas, se lograron identificar 14 complejos raciales cuya composición coincide, prácticamente en su totalidad, con los agrupamientos obtenidos en base a los análisis morfométricos convencionales. Los grupos delimitados por Goodman y McBird son: I. Cónico; II. Dentados del Caribe; III. Reventadores del sur de América; IV. Reventadores del norte de América del Sur; V. Harinosos de tierras bajas; VI. Chapalote; VII. Razas del noroeste de América del Sur; VIII. Razas del sur de América del Sur; IX. Córneos de los Andes del Sur; X. Complejo andino central; XI. Dentados blancos del sur modernos; XII. Cuzco; XIII. Humahuaca; y XIV. Cravos.

Diez años más tarde Goodman y Brown (1988) propusieron diez grupos raciales para los maíces de EE.UU.: I. Harinosos y córneos del norte; II. Harinosos y córneos de las grandes planicies; III. Pima-Papago; IV. Semidentados del sudoeste; V. Doce hileras del sudoeste; VI. Harinosos del sudeste; VII. Dentados del sur; IX. Córneos del sudeste; y X. Dentados del cinturón maicero.

Esta breve descripción de los grupos raciales pone en evidencia la contundente diversidad morfológica presente en las razas de maíces a lo largo de todo el Continente Americano.

### 13.2. Diversidad genética

En la década del '80, el uso de técnicas bioquímicas y moleculares para medir la variabilidad isoenzimática y genética, sumado al desarrollo de diversos análisis estadísticos, permitieron definir con mayor precisión la variación racial presente en el Continente Americano. Uno de los primeros estudios fue realizado por Goodman y Stuber (1983), quienes describieron la variación isoenzimática en las razas de Bolivia. Un par de años más tarde Doebley *et al.* (1985) analizaron las razas de México mediante la misma técnica. Estos últimos encontraron altos niveles de variación tanto entre como dentro de las razas analizadas, siendo estos valores comparables a los descriptos para los teosintes. Asimismo, se vio que el grado de diferenciación bioquímica entre los maíces Córneos del norte y los Dentados del sur de los EE.UU. respaldaba la división taxonómica previamente propuesta en base a características morfológicas (Doebley *et al.*, 1983; Doebley *et al.*, 1986; Doebley *et al.*, 1988). Posteriormente, otro estudio acerca de la variación isoenzimática de las razas de maíz de Guatemala, reveló la existencia de dos complejos: uno correspondiente a las poblaciones de las tierras altas y otro de las regiones bajas (Bretting *et al.*, 1990).

Con el transcurso del tiempo, la aplicación de técnicas basadas en el ADN para los estudios sistemáticos se hizo masiva, comenzando a ser utilizadas con el fin de descifrar las relaciones de parentesco y los patrones de introgresión entre las especies y subespecies del género *Zea*, así como para determinar la dinámica del proceso de domesticación. Entre los marcadores moleculares más utilizados se encuentran: sitios de restricción de ADN cloroplastídico y mitocondrial (Timothy *et al.*, 1979; Doebley *et al.*, 1987b; Doebley, 1990c), datos de secuencia de los espaciadores transcritos de genes ribosomales (*ITS - Internal transcribed spacer*), datos de secuencia de los genes alcohol deshidrogenasa 1 (*Adh-1*) (Eyre-Walker *et al.*, 1998), y 2 (*Adh-2*) (Goloubinoff *et al.*, 1993), entre otros.

Posteriormente, los marcadores microsatélites, también conocidos como *loci* SSR (del inglés *Simple Sequence Repeats*) fueron incorporados a los estudios evolutivos del maíz. Matsuoka *et al.* (2002b) evaluaron los niveles de variación y los patrones mutacionales de 49 *loci* en líneas, razas nativas y teosintes de las secciones Luxuriantes y *Zea*. En ese estudio detectaron que *Z. mays* ssp. *mexicana* y *Z. mays* ssp. *parviglumis* poseen los valores de diversidad más altos, seguidos por

*Z. mays ssp. huehuetenangensis*, *Z. diploperennis* y *Z. luxurians* en último lugar. Además comprobaron la aptitud de los microsatélites para el estudio de las relaciones intra- e interespecíficas en el género. En otro trabajo, Matsuoka *et al.* (2002a) empleando 99 *loci* microsatélites, analizaron la variabilidad genética de 193 entradas de maíz provenientes de todo el rango de distribución es decir, desde la Argentina hasta Canadá. En el estudio incluyeron, además 64 entradas de los teosintes de la sección *Zea*. Las conclusiones del mencionado trabajo se relacionan principalmente con la domesticación y las rutas de dispersión del maíz mencionadas más arriba. Seis años más tarde, Vigouroux *et al.* (2008) realizaron un estudio de estructura poblacional y diversidad genética utilizando 96 marcadores microsatélites. Estos autores ampliaron el muestreo realizado por Matsuoka *et al.* (2002b) a un total de 964 accesiones, logrando de esta manera, representar casi la totalidad de las 350 razas nativas de maíz del Continente Americano. Uno de los resultados que obtuvieron fue la distinción de cuatro grandes grupos raciales conformados de la siguiente manera: I. Razas de las tierras altas de México, II. Razas del norte de EE.UU., III. Razas de las tierras bajas tropicales, y IV. Razas andinas. El análisis filogenético llevado a cabo por los autores, reveló que el sudoeste de los EE.UU. actuó como una zona intermediaria para el pasaje del maíz desde México hacia el norte de los EE.UU. Asimismo, las razas del sudoeste de EE.UU. poseen un genoma ancestral constituido por una mezcla del acervo genético de los grupos II y III, mencionados más arriba, mientras que las razas de las regiones bajas del Centro y Sur de América están constituidas por una mezcla de ancestros andino y tropical de tierras bajas (grupos III y IV).

### **13.3. Variabilidad cromosómica**

El maíz constituye un interesante ejemplo de la variación en el contenido de ADN a nivel intraespecífico (Bennet & Leitch, 1995). Las diferencias en el tamaño del genoma radican en el número de cromosomas B (también llamados cromosomas accesorios o supernumerarios) y en el contenido de heterocromatina de los cromosomas del complemento regular, que está representada en gran parte por los bloques heterocromáticos llamados nudos o “*knobs*”.



### **13.3.1 Cromosomas supernumerarios**

Los cromosomas B son cromosomas adicionales, no esenciales para el organismo, que no recombinan con ningún miembro del complemento regular y tienen modos de herencia irregulares, no mendelianos (Jones & Rees, 1982; Jones, 1995; Jones & Houben, 2003). En la mayoría de los sistemas vegetales estudiados hasta el momento, su mantenimiento se explica por mecanismos acumulación, independientemente de sus efectos beneficiosos o perjudiciales. En plantas, la acumulación de estos cromosomas puede ocurrir durante la meiosis, asegurando su pasaje a la gameta funcional, o bien durante las divisiones mitóticas del grano de polen (Jones & Houben, 2003).

Las razas nativas de maíz que han sido estudiadas a nivel citogenético presentan polimorfismos numéricos para los cromosomas B y su presencia ha sido determinada a lo largo de toda la distribución geográfica del cultivo (Longley, 1938; Bianchi *et al.*, 1963; McClintock *et al.*, 1981; Bretting & Goodman, 1989; Porter & Rayburn, 1990). Sin embargo, los estudios citogenéticos a nivel poblacional son escasos y, en la mayoría de los casos, el tamaño muestral es reducido.

### **13.3.2. Heterocromatina**

Las regiones heterocromáticas del genoma están constituidas principalmente por secuencias altamente repetidas, condensadas en forma permanente y transcripcionalmente inactivas (Lewin, 1994). Gran parte de la heterocromatina del maíz puede ser visualizada, mediante técnicas citogenéticas de tinción convencional, en preparados cromosómicos de meiosis durante la fase de paquitene como un “nudo”. La composición de las regiones heterocromáticas no es uniforme. Los nudos están compuestos por repeticiones en tándem de dos tipos de unidades con un tamaño de 180 y 350 pares de bases respectivamente, pudiendo alcanzar los miles o millones de copias. En el caso particular del maíz, las zonas heterocromáticas están localizadas en 34 sitios polimórficos a lo largo de los 10 cromosomas que conforman su complemento haploide (Kato, 1976). Los nudos siempre se encuentran en una posición fija en el brazo de un cromosoma particular. Es importante destacar que en cualquier posición designada, un nudo puede estar

presente o ausente, y si está presente, su tamaño y posición particular son caracteres heredables que presentan variación a nivel poblacional. El estudio de McClintock (1959) acerca de la constitución cromosómica de ciertas razas de Sudamérica, evidenció la naturaleza conservada de estos elementos, comprobando que el tamaño y posición de los nudos permanecieron prácticamente inalterados por siglos. Tal es así, que tres décadas más tarde, McClintock *et al.* (1981) a partir de la evaluación de la presencia y tamaño de nudos paquiténicos caracterizaron las razas nativas de maíz del Continente Americano. Los resultados de sus análisis fueron importantes para el planteo de hipótesis acerca de la relación entre las razas y su dispersión hacia Norte y Sudamérica. El detallado estudio de la morfología y patrones de distribución de los nudos, realizado por estos autores, puso en evidencia una marcada estructuración geográfica de los complejos cromosómicos, especialmente para Sudamérica. Tanto México como las regiones norte y oeste de Guatemala exhibieron la mayor diversidad en relación con los tipos, tamaños y combinaciones de nudos. Mientras que los maíces de las tierras altas de América del Sur occidental, territorio que comprende la región andina desde Colombia hasta el norte de Chile y norte de la Argentina, resultaron ser notablemente uniformes en su composición cromosómica, caracterizándose por la presencia de únicamente dos pequeños nudos ubicados en los brazos largos de los cromosomas 6. Como consecuencia de esto, McClintock *et al.* (1981) denominaron al conjunto de razas con éstas características "Complejo Andino". Según estos mismos autores, los maíces de dicho complejo habrían estado sometidos a un largo período de aislamiento, luego del cual se habrían dispersado extensamente al resto de Sudamérica, llevando consigo esa característica distintiva.

## **14. Las razas de maíz en la Argentina**

### **14.1. Centros de diversidad**

La región norte de la Argentina es una de las zonas más australes de cultivo de razas nativas de maíz, remontándose los registros del cultivo a tiempos muy anteriores a la conquista. El botánico N. Vavilov (1926) distinguió a lo largo de este

área dos centros de diversidad: (a) el altiplano, o la región del noroeste argentino (**NOA**), la cual representaría una expansión de los Andes Peruanos y (b) la llanura mesopotámica-chaqueña, o noreste argentino (**NEA**). Esta última región comprende una zona de tierras bajas donde las razas nativas cultivadas serían mucho más próximas a las variedades autóctonas de Brasil y de Paraguay.

Debido a la gran diversidad morfológica y a la proximidad geográfica con los Andes Peruanos, las razas de maíz del NOA han sido objeto de un mayor número de estudios en comparación con aquellas de la región del NEA, para las cuales el conocimiento biológico primario, tanto a nivel morfológico como genético, es aún escaso (Melchiorre *et al.*, 2006; Bracco *et al.*, 2008; Cámara Hernández *et al.*, 2012).

A continuación se presenta una breve reseña de los antecedentes acumulados hasta el momento en relación con la variabilidad morfológica, genética y cromosómica de las razas nativas de maíz de la República Argentina.

#### **14.1.1. Diversidad morfológica**

La descripción de la diversidad morfológica de las razas nativas de nuestro país se inició con un estudio realizado por Torregrossa *et al.* (1980) en su “Clasificación preliminar de formas raciales de maíz y su distribución geográfica en la República Argentina”. Recientemente, Cámara Hernández *et al.* (2012) identificaron 51 formas raciales basándose en la morfología, tamaño, diámetro y número de hileras en la mazorca, diámetro del marlo, morfología, tamaño e indentación de los granos, colores del pericarpio, aleurona y endosperma, así como también la textura de los granos. Para la región del NEA se identificaron alrededor de 23 razas, principalmente mediante las diferencias encontradas en las espigas (Cámara Hernández & Miente Alzogaray, 2003; Melchiorre *et al.*, 2006; Cámara Hernández *et al.*, 2012).

#### 14.1.2. Diversidad genética

La documentación de la diversidad genética de las razas nativas de maíz del sur de Sudamérica es en términos generales, muy escasa. Los trabajos existentes remiten a un limitado número de individuos por entrada o por raza, quedando las razas nativas argentinas muy pobremente representadas y no pudiéndose calcular ningún tipo de parámetro poblacional para las mismas. Por ejemplo, Sánchez G. *et al.* (2000) estudiaron la diversidad isoenzimática en 28 entradas correspondientes a 22 razas argentinas. Matsuoka *et al.* (2002b) en su descripción de la variación microsatélite de las razas de maíz, incluyeron sólo tres entradas del NOA y una de la región centro-norte de la Argentina, pertenecientes a cuatro razas (a saber, Capia Garrapata, Capia Amarillo, Oke y Cristal Sulino). Vigouroux *et al.* (2008) utilizaron sólo 15 accesiones de 14 razas de nuestra región (es decir, Altiplano, Chulpi, Culli, Bola Blanca, Capia Garrapata, Marrón, Cateto Sulino Precoce, Canario de Ocho, Capia Blanco, Cateto Sulino, Cristal Sulino, Morocho, Oke y Pisingallo), cada una de ellas representadas por uno a tres individuos. Más recientemente, siguiendo el mismo esquema de muestreo, van Heerwaarden *et al.* (2011) utilizaron 17 entradas de 16 razas, la mayoría de ellas cultivadas en el NOA, siendo prácticamente nula la representación del NEA.

En contraposición, los estudios llevados a cabo por Lia (2004) y Lia *et al.* (2009) sobre las razas del NOA constituyen un aporte original por su enfoque microevolutivo al conocimiento de la estructura poblacional. Dichos autores, estudiaron la variabilidad de 18 *loci* microsatélite en 8 poblaciones pertenecientes a 6 razas nativas del NOA (es decir, Altiplano, Blanco, Amarillo Grande, Amarillo Chico, Pisingallo y Orgullo Cuarentón). Los resultados obtenidos en sus trabajos ponen de manifiesto la importancia de estas razas como fuente de diversidad, dado que se detectaron altos niveles de variabilidad genética en los materiales de esa zona. Asimismo, dichos hallazgos destacan la existencia de al menos tres grupos raciales diferentes que contribuyen a la riqueza del germoplasma de la región: las razas que pertenecen al Complejo andino (Amarillo chico, Altiplano, Amarillo grande y Blanco), los Reventadores andinos (Pisingallo), y las Razas incipientes (Orgullo cuarentón).

Estos resultados muestran la importancia de abordar estudios de caracterización del germoplasma nativo como paso inicial para el desarrollo de

estrategias eficientes para la conservación de este recurso vital. Hasta la concreción de este trabajo de Tesis Doctoral, la caracterización genética del germoplasma autóctono de la región del NEA, el otro centro de diversidad en la Argentina, estaba circunscripta sólo a las razas de maíces reventadores (Bracco, 2006).

#### **14.1.3. Variabilidad cromosómica: contenido de ADN, heterocromatina y cromosomas supernumerarios**

En estudios citogenéticos realizados en 11 poblaciones pertenecientes a 6 razas nativas del NOA se detectó variación intrapoblacional en el contenido de ADN del complemento regular (Rosato, 1997). Además, se encontró una correlación negativa entre número y tamaño de los nudos y la altitud de cultivo (Poggio *et al.*, 1998; González *et al.*, 2009a y b, 2010; Fourastié, 2010). Para materiales del NEA, recientemente se han iniciado los estudios citogenéticos (Realini MF, com. pers.).

Rosato (1997) y Rosato *et al.* (1998) investigaron el polimorfismo numérico para cromosomas B en 21 poblaciones pertenecientes a 13 razas nativas de maíz del NOA, cultivadas en un rango de altitud entre los 80 y 3.620 msnm. Las frecuencias medias de cromosomas B calculadas por estos autores son las más altas descritas hasta el momento. Además, detectaron una correlación positiva entre la frecuencia de cromosomas B y la altitud de cultivo. Posteriormente, los datos obtenidos por Lia (2004) y Lia *et al.* (2007a) confirmaron el valor adaptativo de este cline altitudinal. La presencia de cromosomas supernumerarios en las razas nativas de maíz de la región del NEA sólo ha sido evaluada, por Rosato *et al.* (1998) en tres poblaciones correspondientes a dos razas de la provincia de Formosa. Los autores encontraron una muy baja frecuencia de estos elementos en dichas poblaciones.

De lo anteriormente expuesto, resulta evidente que los estudios cromosómicos de las razas nativas de nuestro país se han desarrollado casi exclusivamente en ejemplares provenientes del NOA, siendo hasta la actualidad, prácticamente nulos para la región del NEA. El presente trabajo de Tesis Doctoral

es el primero en evaluar la presencia de cromosomas B en las poblaciones de razas nativas de maíz provenientes de Misiones.

#### **14.2. Las comunidades aborígenes y el cultivo del maíz: importancia socio-económica y cultural**

Las comunidades aborígenes que habitan el norte de nuestro país cultivan sus razas de maíz para consumo familiar esforzándose por conservar sus atributos más importantes, evitando así, al menos en teoría, la contaminación con germoplasma comercial (**figura 12**). Los pueblos originarios son los guardianes de la enorme riqueza que tienen las razas nativas, que preservan mediante la agricultura tradicional. Los sistemas de cultivo de estas comunidades están basados en la provisión del cereal para satisfacer las necesidades alimentarias de la comunidad y proporcionan el contexto cultural dentro del cual se transmiten los valores familiares y del trabajo (Martínez-Crovetto, 1968). Las parcelas dedicadas al cultivo son pequeñas, pudiendo tener desde unos pocos metros cuadrados hasta menos de una hectárea. La mayoría de los cultivadores trabaja la tierra con arado tirado por mulas o bueyes y efectúa la siembra a mano en surcos.

En lo que respecta a la cosmovisión, el maíz es protagonista de las celebraciones rituales y religiosas de estos grupos aborígenes (Fontana, 2005). Por lo expuesto, cuando se pierde una variedad tradicional de maíz la comunidad pierde un fragmento de su Historia y de su Cultura.

Además de su valor intrínseco, las variedades autóctonas de maíz poseen numerosos caracteres que constituyen una riqueza potencial para la agricultura moderna. En las últimas décadas ha estado ocurriendo una irremediable pérdida de la biodiversidad a escala mundial, debido a la acción antrópica. A esto debe sumarse que las razas nativas cultivadas por los pequeños grupos de agricultores aborígenes están cada vez más amenazadas por el reemplazo con germoplasma comercial de alto rendimiento. Es así que, hoy en día, las razas nativas de maíz que se desarrollan en el territorio de nuestro país se enfrentan a dos riesgos principales. Uno de éstos consiste en el avance y la transformación de la frontera agrícola, lo que ha provocado importantes cambios estructurales y funcionales en el sector rural, por la rápida expansión de los límites de las zonas de cultivo a expensas de los bosques naturales del norte y las tierras de pastoreo (Viglizzo *et al.*, 2011). Por

otro lado, a medida que los híbridos y variedades comerciales se hacen más atractivos frente a las razas nativas para los cultivadores aborígenes, la persistencia del acervo genético de estas últimas se ve cada vez más amenazada. Por ello, a menos que se realicen esfuerzos especiales para proteger y resguardar el germoplasma tradicional, así como para fomentar su cultivo permanente, estas reservas genéticas se irán erosionando con el paso del tiempo.



**Figura I2.** Imágenes tomadas en las aldeas de las comunidades aborígenes de la etnia Guaraní de la provincia de Misiones, durante el viaje de colección de razas nativas.

### **14.3. Conservación *ex-situ***

La conservación de la biodiversidad es un tema que ha venido ganando relevancia progresivamente en nuestra sociedad dado el acelerado proceso de degradación ambiental en el que vivimos. Sin embargo, la preocupación por la conservación de los recursos vegetales es tan antigua como la propia civilización humana (Iriondo Alegría, 2001). El almacenamiento de semillas ha sido relevante desde el inicio de la agricultura, hace 10.000 años. Los antiguos pobladores almacenaban semillas para su utilización en la siembra del año siguiente y de esta

manera aseguraban un abastecimiento sostenible de alimento para su comunidad (Chang, 1985; Maxted *et al.*, 1997). Sin embargo, fue recién a mediados del siglo XX cuando se empezó a percibir el problema de la erosión genética a escala mundial (Iriondo Alegría, 2001). Las señales de alarma comenzaron a tomarse más seriamente a mediados de la década del '60, al descubrirse que la sustitución de variedades tradicionales por cultivares modernos, sumado al deterioro de los ecosistemas naturales, por la creciente actividad humana, estaban conduciendo a un acelerado cuello de botella de la base genética de las mismas (Dodds, 1991; Maxted *et al.*, 1997). Afortunadamente, la toma de conciencia de esta situación determinó la puesta en marcha de medidas para la conservación de los recursos fitogenéticos (Iriondo Alegría, 2001). Desde entonces las técnicas de conservación *ex-situ* en instituciones nacionales e internacionales específicas, como los Bancos de Germoplasma, resultan esenciales para cualquier programa de conservación seriamente formulado. En nuestro país, el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) ha establecido a la conservación de los recursos genéticos como un tema prioritario. En razón de ello, se ha implementado el Sistema de Recursos Genéticos, que incluye una Red de nueve Bancos Activos de Recursos Fitogenéticos, entre los que se cuenta el Banco de Germoplasma de Maíz de la EEA Pergamino. Este Banco posee un total de 2.584 entradas, incluyendo razas nativas, variedades o cultivares antiguos, líneas avanzadas y colecciones de mejoramiento, cuya caracterización molecular es aún incipiente.

#### **14.4. Producción actual de maíz en el mundo**

Los volúmenes de producción de maíz obtenidos a nivel mundial crecieron mucho en los últimos años, y aún siguen haciéndolo. En el año 2000 se produjeron alrededor de 600 millones de toneladas de cada uno de los principales cultivos (maíz, trigo, arroz). Recientemente, el maíz se ha transformado en el cultivo más producido del mundo, superando al trigo y al arroz. En el periodo 2000-2010 la producción de maíz se incrementó un 41% alcanzando los 822 millones de toneladas (Fuente: Asociación Maíz y Sorgo Argentino-MAIZAR, 2010). Según datos aportados por la FAO (Organización para la Alimentación y la Agricultura de las Naciones Unidas), son 168 los países que producen maíz. Estados Unidos posee la



mayor superficie sembrada (36 millones de hectáreas), siendo el principal productor mundial (cerca del 40% del total) con 285 millones de toneladas promedio por año en el decenio 2000-2010. Otros grandes productores son China (138 millones de toneladas), la Unión Europea (56 millones), Brasil (45,6 millones), México (21,3 millones) y la Argentina con 17,4 millones (Fuente: Asociación Maíz y Sorgo Argentino-MAIZAR, 2010).

Como puede observarse, el mercado mundial del maíz viene creciendo, y seguiría haciéndolo en los próximos años, impulsado por el crecimiento del consumo mundial de este cereal (Fuente: Asociación Maíz y Sorgo Argentino-MAIZAR, 2010). Sin embargo, la superficie ocupada por la siembra de las razas nativas es mínima en comparación con las variedades comerciales que ofrecen un nivel de producción por hectárea mucho mayor. Esta escasa utilización de material nativo conlleva una pérdida de variabilidad genética que se profundizará con el paso del tiempo, y que, de no mediar programas de conservación debidamente diseñados, será prácticamente imposible recuperar.

## **I5. Objetivos**

El presente trabajo de Tesis Doctoral tiene como objetivo general aportar al conocimiento de la diversidad genética en razas nativas de maíz del NEA con el fin de contribuir a su conservación, al contraste de hipótesis acerca de la dispersión del maíz en América del Sur y a la evaluación de su potencial como fuente de germoplasma para planes biotecnológicos y de mejoramiento.

### **Objetivos particulares**

- Caracterizar y documentar la diversidad genética de razas autóctonas de maíz del NEA utilizando marcadores microsatélites.
- Estudiar los patrones de distribución de la variación de los alelos microsatélites a nivel intra e interpoblacional.
- Caracterizar la dinámica poblacional del germoplasma nativo del área en estudio.
- Comparar los patrones de variabilidad microsatélite entre las poblaciones del NEA y del NOA.
- Establecer las afinidades genéticas entre las razas del NEA y otras razas del Continente Americano.
- Identificar razas y poblaciones de maíces nativos sometidos a procesos de erosión genética para asegurar su conservación en los bancos de germoplasma nacionales.
- Determinar la presencia de cromosomas B en las razas de maíz de Misiones.

# MATERIALES Y MÉTODOS



## M1. Material vegetal

### M1.1. Razas nativas de Misiones

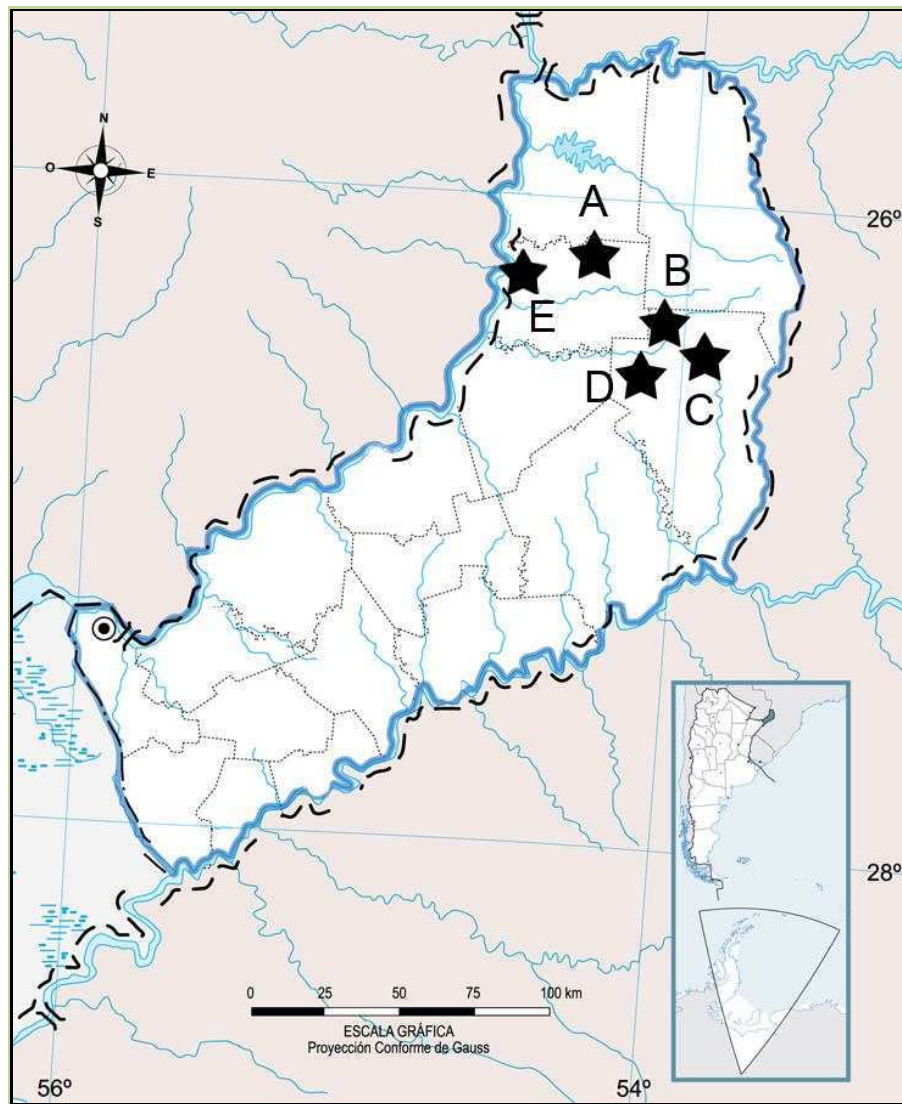
Los ejemplares incluidos en esta sección fueron cedidos directamente por los cultivadores aborígenes al Ing. Agr. J. A. Cámara Hernández y a la autora de esta Tesis durante un viaje de colección realizado en el año 2005. Los sitios de colección corresponden a aldeas de comunidades de la etnia Guaraní, cuya localización se determinó mediante el sistema de posicionamiento global (GPS) (**figura M1**). Estas pequeñas comunidades mantienen su reservorio de semillas (es decir, granos de maíz) con un escaso o nulo aporte de germoplasma comercial. El tamaño de las muestras cedidas en cada aldea estuvo principalmente determinado por la disponibilidad de semillas, dado que los cultivadores guardan para la siembra del año siguiente sólo un número limitado de mazorcas. La determinación taxonómica de los materiales coleccionados fue realizada por el Ing. Agr. J. A. Cámara Hernández en base a caracteres morfológicos. Las muestras se encuentran depositadas en el Herbario del Laboratorio de Recursos Genéticos Vegetales "N. I. Vavilov", Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.

Cada población fue designada con el número correspondiente de identificación de herbario; cada individuo fue identificado con un número arbitrario con el fin de mantener el registro sobre su origen. Las poblaciones recolectadas en la misma aldea, pertenecientes a la misma raza y para las que se disponía de un número bajo de individuos, se combinaron y nombraron con las iniciales de la raza correspondiente (es decir, bajo la denominación "BA" se reunieron los individuos pertenecientes a las 2 poblaciones de la raza Blanco angosto; "Co" reúne los individuos de 2 poblaciones de Colorado y "RoA y RoB" los de sendas poblaciones de Rosado).

El término "raza" se emplea aquí para referir a una entidad taxonómica delimitada por un conjunto de atributos morfológicos, mientras que el término "población" se emplea para referir a un conjunto de individuos que son cultivados por un agricultor o grupo familiar dado y que comparten características morfológicas similares, es decir, que se pueden asignar a la misma raza.

En la **tabla M1** se indica la identificación de herbario, la raza de cada población, el sitio de procedencia, así como el número de individuos estudiados (N).

En términos generales, se analizaron entre 4 a 10 individuos por mazorca, y entre 2 a 7 mazorcas por población, provenientes de diferentes plantas madre. Sin embargo, para la población 6597 solo se dispuso de una mazorca, de la cual se examinaron en total 20 individuos.



**Figura M1.** Localización geográfica de las poblaciones de maíces de la Provincia de Misiones incluidas en el presente estudio. **A**, Aldea Alecrín: poblaciones 6586, BA, 6595, Co, 6597, 6585, 6593, 6596, 6618 y 6607; **B**, Aldea Pozo Azul: 6610, 6611, 6601, 6591, 6592, 6604, 6602 y RoB; **C**, Piñalito: 6605 y 6608; **D**, Aldea Guavirá Poty: 6617, 6614, 6615 y RoA; **E**, Colonia Mado Delicia: 6619.

**Tabla M1.** Razas nativas de maíces de la Provincia de Misiones, Argentina.

Número de Identificación de herbario	Población	Raza	Sitio de colección	N
VAV6586	6586 <sup>^</sup>	Blanco ancho	Aldea Alecrín, Dpto. Eldorado.	10
VAV6615	6615 <sup>^</sup>	Blanco ancho	Aldea Guavirá Poty, Dpto. San Pedro.	16
VAV6602	6602 <sup>^</sup>	Blanco ancho	Pozo Azul, Dpto. San Pedro.	15
VAV6599; VAV6587	BA <sup>^</sup>	Blanco angosto	Aldea Alecrín, Dpto. Eldorado.	30
VAV6610	6610 <sup>^</sup>	Blanco angosto	Pozo Azul, Dpto. San Pedro.	20
VAV6592	6592 <sup>#</sup>	Tupí Blanco	Pozo Azul, Dpto. San Pedro.	16
VAV6595	6595 <sup>^</sup>	Overo	Aldea Alecrín, Dpto. Eldorado.	8
VAV6617	6617 <sup>^</sup>	Overo	Aldea Guavirá Poty, Dpto. San Pedro.	10
VAV6601	6601 <sup>^</sup>	Overo	Pozo Azul, Dpto. San Pedro.	16
VAV6594; VAV6589	Co <sup>#</sup>	Colorado de Misiones	Aldea Alecrín, Dpto. Eldorado.	20
VAV6604	6604 <sup>#</sup>	Colorado de Misiones	Pozo Azul, Dpto. San Pedro.	12
VAV6597	6597 <sup>^</sup>	Azul de Misiones	Aldea Alecrín, Dpto. Eldorado.	20
VAV6585	6585 <sup>^</sup>	Variiegado	Aldea Alecrín, Dpto. Eldorado.	20
VAV6616; VAV6621	RoA <sup>^</sup>	Rosado	Aldea Guavirá Poty, Dpto. San Pedro.	20
VAV6603; VAV6602	RoB <sup>^</sup>	Rosado	Pozo Azul, Dpto. San Pedro.	20
VAV6593	6593 <sup>^</sup>	Amarillo angosto	Aldea Alecrín, Dpto. Eldorado.	28
VAV6591	6591 <sup>^</sup>	Amarillo angosto	Pozo Azul, Dpto. San Pedro.	16
VAV6611	6611 <sup>^</sup>	Amarillo ancho	Pozo Azul, Dpto. San Pedro.	24
VAV6619	6619 <sup>#</sup>	Tupí amarillo	Colonia Mado Delicia, Dpto. Eldorado.	16
VAV6608	6608 <sup>#</sup>	Tupí amarillo	Piñalito, Dpto. San Pedro.	20
VAV6596	6596 <sup>*</sup>	Pipoca colorado	Aldea Alecrín, Dpto. Eldorado.	20
VAV6618	6618 <sup>*</sup>	Pipoca colorado	Aldea Alecrín, Dpto. Eldorado.	30
VAV6605	6605 <sup>*</sup>	Pipoca amarillo	Piñalito, Dpto. San Pedro.	20
VAV6607	6607 <sup>*</sup>	Pororó azul	Aldea Alecrín, Dpto. Eldorado.	25
VAV6614	6614 <sup>*</sup>	Pororó grande	Aldea Guavirá Poty, Dpto. San Pedro.	20

\*maíces con granos de consistencia córnea, en adelante llamados “reventadores”; <sup>^</sup> maíces con granos de consistencia harinosa, en adelante llamados “harinosos”; <sup>#</sup> maíces con granos de consistencia córnea en su periferia y harinosa en su interior, en adelante llamados “córneo-harinosos”.

## M1.2. Razas nativas del Banco de Germoplasma INTA-Pergamino

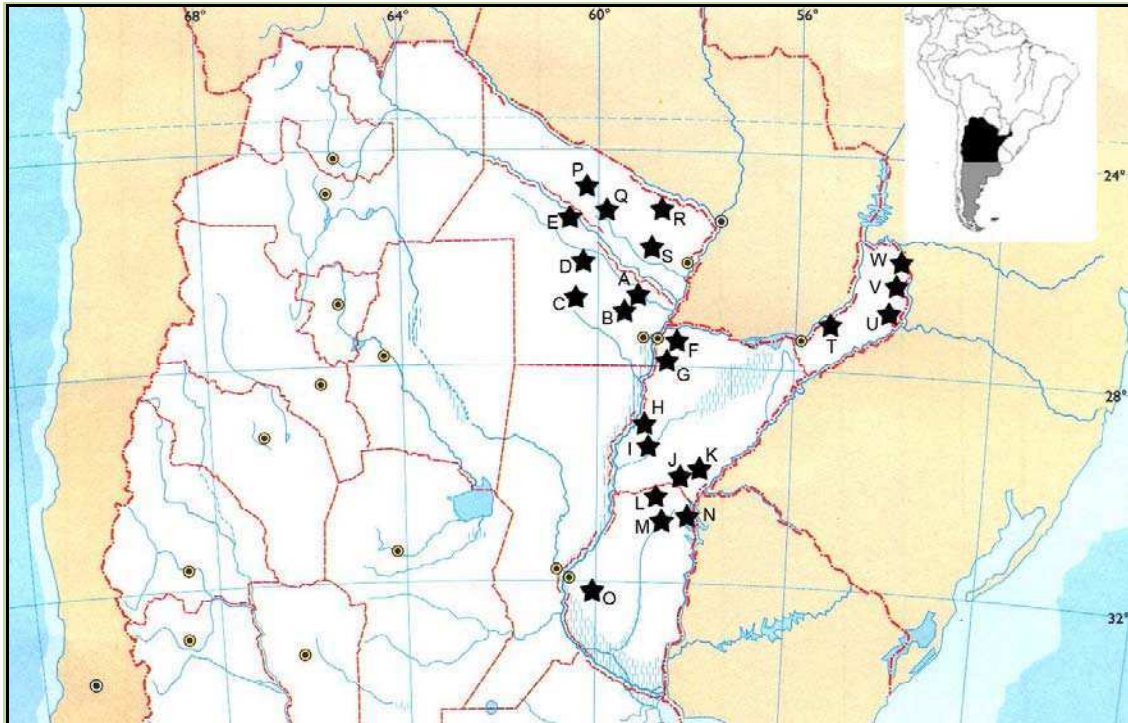
Con el fin de ampliar el muestreo a toda la región del NEA se incorporaron 107 individuos correspondientes a 21 entradas de 9 razas nativas, las cuales se encuentran conservadas en el Banco de Germoplasma de la Estación Experimental Agropecuaria INTA-Pergamino. Estas entradas forman parte de las colecciones originales del Banco realizadas entre los años 1977 y 1978, en las Provincias de Entre Ríos, Corrientes, Chaco, Formosa y Misiones (**figura M2**). Cabe destacar que la Provincia de Entre Ríos se encuentra dentro de la región Pampeana, sin embargo debido a su proximidad y conexión socio-cultural con la región del NEA se la incluyó en éste análisis. Para cada entrada, el número de individuos analizados estuvo determinado principalmente por la disponibilidad de material del Banco, y en segundo lugar por el poder germinativo de los granos. Estos materiales fueron procesados como se detalla en el apartado M2.; la obtención de una parte de los datos crudos fue realizada contando con la colaboración de la Srita. J. Cascales (Cascales *et al.*, 2011).

En la **tabla M2** se indica el número identificador de entrada, propio del Banco de Gremoplasma, la raza a la que pertenece, el nombre común o vernáculo, el sitio de colección, así como el número de individuos analizados. Todas las razas descriptas en la tabla M2 son del tipo harinoso y córneo-harinoso.

**Tabla M2.** Razas nativas del noreste argentino provenientes del Banco de Germoplasma INTA-Pergamino.

<b>Provincia del Chaco</b>				
<b>Entrada</b>	<b>Raza</b>	<b>Nombre común</b>	<b>Sitio de colección</b>	<b>N</b>
ARZM06002	Cristalino amarillo anaranjado	Canario	La Eduvigis, Libertador San Martín.	3
ARZM06050	Cristalino colorado	Gallego	Pte. R. Sáenz Peña, Cte. Fernández.	2
ARZM06067	Avatí morotí tí	Amarillo	Tres Isletas, Maipú.	7
ARZM06109	Avatí morotí tí	Amarillo	Lapachito, Gral. Donovan.	5
ARZM06076	Dentado blanco	Diente de caballo	Castelli, Gral. Martín de Güemes.	5
<b>Provincia de Corrientes</b>				
<b>Entrada</b>	<b>Raza</b>	<b>Nombre común</b>	<b>Sitio de colección</b>	<b>N</b>
ARZM04015	Avatí morotí	Amarillo	Paraje Tacuaba, Monte Caseros.	4
ARZM04025	Avatí morotí	Amarillo	Peruggorría, Curuzú Cuatiá.	5
ARZM04026; ARZM04029	Avatí morotí	Amarillo	Ifrán, Goya.	5; 5
ARZM04018	Camelia	Chileno	Colonia Libertad, Monte Caseros.	5
ARZM04060	Calchaquí	Mazamorrero	Corrientes, Corrientes.	5
ARZM04063	Canario de Formosa	Criollo	El sombrero, Corrientes.	4
<b>Provincia de Entre Ríos</b>				
<b>Entrada</b>	<b>Raza</b>	<b>Nombre común</b>	<b>Sitio de colección</b>	<b>N</b>
ARZM03011	Dentado Blanco	Diente de caballo	Colonia Sauce, Federación.	5
ARZM03030	Dentado Blanco	Diente de caballo	Colonia Tuna, Feliciano.	5
ARZM03036	Calchaquí	Morocho	Colonia Nueve, Feliciano.	4
ARZM03021	Cristalino amarillo anaranjado	Pampa	Colonia Razzetta, Federación.	5
ARZM03055	Cristalino amarillo anaranjado	Amargo Brasileiro	Colonia 21 Cricecita, Nogoyá.	5
<b>Provincia de Formosa</b>				
<b>Entrada</b>	<b>Raza</b>	<b>Nombre común</b>	<b>Sitio de colección</b>	<b>N</b>
ARZM07058	Canario de Formosa	Colorado	Gral. Manuel Belgrano, Patiño.	1
ARZM07061	Canario de Formosa	Colorado	Misión Tacaaglé, Pilagás.	2
ARZM07094	Avatí morotí	Amarillo	El Olvido, Pirané.	3
ARZM07125	Dentado blanco	Blanco	Colonia Bañaderos, Patiño.	3
<b>Provincia de Misiones</b>				
<b>Entrada</b>	<b>Raza</b>	<b>Nombre común</b>	<b>Sitio de colección</b>	<b>N</b>
ARZM05074	Venezolano	Amarillo	Tobuna, San Pedro.	4
ARZM05067	Avatí morotí tí	Avatí Morotí tí	Campo Las Monjas km 300, Guaraní.	5
ARZM05069	Avatí morotí tí	Catete Sucio	Campo Las Monjas km 300, Guaraní.	4
ARZM05077	Avatí morotí tí	Catete	Bernardo de Irigoyen, Gral. Belgrano.	3
ARZM05118	Avatí morotí tí	Blanco	Santo Pipó, San Ignacio.	4



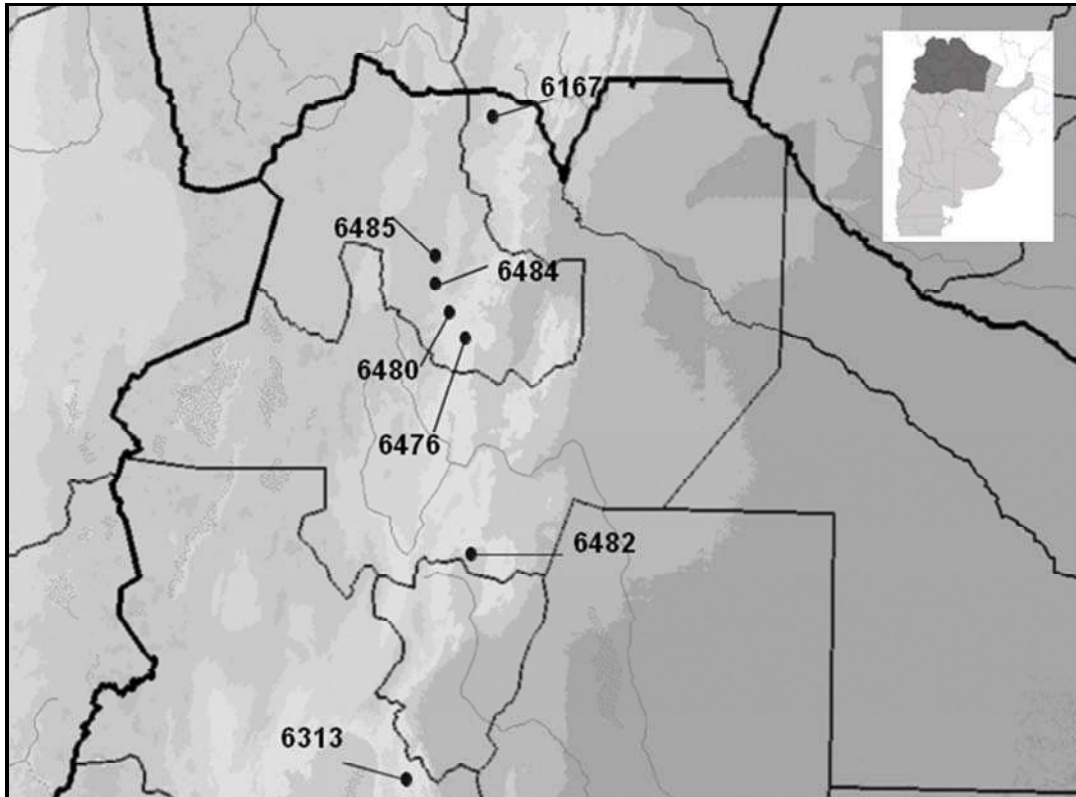


**Figura M2.** Localización geográfica de las entradas del Banco de Germoplasma incluidas en este estudio. Provincia de Chaco: **A**, La Eduvigis; **B**, Capachito; **C**, Pte. Roque Sáenz Peña; **D**, Tres Isletas; **E**, Castelli; Provincia de Corrientes: **F**, Corrientes; **G**, El Sombrero; **H**, Ifrán; **I**, Perrugorría; **J**, Colonia Libertad; **K**, Paraje Tacuaba; Provincia de Entre Ríos: **L**, Colonia Tunas; **M**, Colonia Razzetta; **N**, Colonia Sauce; **O**, Colonia Cricecita; Provincia de Formosa: **P**, Gral. Manuel Belgrano; **Q**, Colonia Bañaderos; **R**, Misión Tacaaglé; **S**, El Olvido; Provincia de Misiones: **T**, Santo Pipó; **U**, Campo Las Monjas; **V**, Tobuna y **W**, Bernardo de Irigoyen.

### M1.3. Razas nativas del noroeste argentino

Para poder comparar los dos principales centros de diversidad de la Argentina, es decir el NEA y el NOA, se incorporaron al análisis los datos generados por Lia (2004) y Lia *et al.* (2009) para las razas. Éstos son producto del análisis de 8 poblaciones de 6 razas nativas del NOA y corresponden a los 10 *loci* microsatélites que existen en común con el presente trabajo (**figura M3**). Para esta región, dichos autores detectaron la contribución de tres grupos raciales de distinto origen: los

maíces del Complejo andino, los maíces Reventadores andinos y las Razas incipientes.



**Figura M3.** Localización geográfica de las poblaciones del NOA. Provincia de Jujuy: 6473 (Altiplano; N=18), 6476 (Amarillo chico; N=14), 6480 (Amarillo grande; N=25); 6484 (Amarillo chico; N=20), 6485 (Blanco; N=13); Provincia de Salta: 6167 (Altiplano; N=14), 6482 (Orgullo cuarentón; N=24); Provincia de Catamarca: 6313 (Pisingallo; N=16). Tomado de Lia (2004).

#### M1.4. Otras razas nativas del Continente Americano

A fin de inferir las relaciones entre las razas autóctonas argentinas y las del resto del Continente Americano, se incorporaron al análisis los datos genotípicos generados por Vigouroux *et al.* (2008) (**figura M4**). Para realizar esta comparación, se emplearon los 10 *loci* microsatélites compartidos por los tres conjuntos de datos (es decir: NEA - NOA - otras razas del Continente Americano).



**Figura M4.** Localización geográfica de las entradas analizadas para el Continente Americano. **Norte de Estados Unidos:** fucsia; **Sudeste de Estados Unidos:** amarillo; **Sudoeste de Estados Unidos:** morado; **México:** celeste; **Caribe:** naranja; **Norte de Sudamérica:** verde; **Centro de Sudamérica:** marrón; **Andes:** azul; **Chile:** Gris. Tomado de Vigouroux *et al.* (2008).

## M2. Métodos experimentales

### M2.1. Germinación

La germinación de los granos se realizó en cámaras húmedas esterilizadas, compuestas por cajas de Petri conteniendo algodón humedecido cubierto por un disco de papel de filtro. A los granos se les efectuó una esterilización superficial consistente en lavados sucesivos de 1 min en etanol 70% (v/v), 1 min en lavandina

50% (v/v), 1 min en etanol 50% (v/v) y 2 lavados de 2 min cada uno con H<sub>2</sub>O bidestilada estéril. Las cajas germinadoras fueron colocadas bajo condiciones de luz continua y temperatura de entre 24 y 27 °C.

## **M2.2. Extracción y cuantificación del ADN genómico total**

El ADN genómico total se extrajo a partir de plántulas individuales de entre 5 a 7 cm de longitud, siguiendo el protocolo de Dellaporta *et al.* (1983) con ligeras modificaciones (ver apéndice).

El ADN genómico fue cuantificado por comparación contra concentraciones conocidas de un marcador de peso molecular, por ejemplo el *Lambda DNA/EcoRI + Hind III* (Promega), mediante una electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1,5% (p/v). La electroforesis se llevó a cabo en *buffer* TAE 1X (ver apéndice) a un voltaje constante de 75-90 volts/cm durante aproximadamente 45 min. La visualización del ADN se realizó por tinción de los geles con una solución acuosa de bromuro de etidio (5% v/v) y posterior transiluminación con luz ultravioleta.

## **M2.3. Selección de *loci* microsatélites**

Para analizar la variabilidad de las razas nativas de maíces del NEA, y tomando como referencia la evaluación realizada por Lia (2004) en razas nativas del NOA, en primer término se seleccionaron 10 *loci* SSR. En segundo término, se incorporaron 5 *loci* adicionales con el fin de ampliar la caracterización genética, tomando como criterio la facilidad de interpretación de los patrones electroforéticos y la pre-existencia de datos de otras razas nativas del Continente Americano (Vigouroux *et al.*, 2008). En síntesis, se analizaron 15 *loci* SSR independientes, abarcando todos los grupos de ligamiento del genoma del maíz (**tabla M3**) ([www.maizegdb.org](http://www.maizegdb.org)).

**Tabla M3.** Localización cromosómica, motivo de repetición y cebadores de los *loci* microsatélite estudiados.

<b>Locus</b>	<b>Localización cromosómica (bin*)</b>	<b>Motivo de repetición**</b>	<b>Cebadores</b>	
			<b>Forward 5'-3'</b>	<b>Reverse 5'-3'</b>
<i>bnlg1866</i>	1.03	AG	CCCAGCGCATGTCAACTCT	CCCCGGTAATTCAGTGGATA
<i>phi037</i>	1.08	CT	CCCAGCTCCTGTTGTCTGGCTCAGAC	TCCAGATCCGCCGCACCTCACGTCA
<i>bnlg1018</i>	2.04	AG	CGAGGTTAGCACCCGACAAAT	CGAGTAAATGCTCTGTGCCA
<i>bnlg1329</i>	2.08	AG	ATAGAATGGGATGTGGGCAA	TCCGATCATATCGGGAGATC
<i>bnlg1108</i>	3.08	AG	GGATTCCTTTATGACGGGGT	AGTAACAACCAAGGCATCGG
<i>bnlg1182</i>	3.09	AG	AGCCGAGTCAGTTCGAGGTA	CAGGGGCTTGAGGTGAGTTA
<i>bnlg252</i>	4.06	-	CGTTCTCCGTACAGCACAGACCAACGT	CTCAGATGAACTCCTCAGCAGCTGTAGCCT
<i>bnlg105</i>	5.02	AG	GACCGCCCGGGACTGTAAGT	AGGAAAGAAGGTGACGCGCTTTTC
<i>bnlg1287</i>	5.04	AG	GCCCTACCTGTTCTGTCTCG	TGTCCCATACCTCAACGTGA
<i>bnlg1732</i>	6.05	AG	AACTTTTGGCATTGCACTGG	CGTAAGTGCACACGGCATT
<i>bnlg1740</i>	6.07	AG	TTTTCTCCTTGAGTTCGTTTCG	ACAGGCAGAGCTCTCACACA
<i>bnlg1070</i>	7.03	AG	TTCCAGTAAGGGAGGTGCTG	TAAGCAACATATAGCCGGGC
<i>bnlg1209</i>	9.04	AG	GTCCCGGGCAGAATAATACC	TTCCTCCTTGAAGTGCTCGT
<i>bnlg1360</i>	10.07	AG	TCTGCTCATCCACAATTGC	AGAACGTGAAGCTGAGCGTT
<i>bnlg1526</i>	10.04	AG	ACGAGCGAGTGGAGAATAGG	AGCCCAGTACGTGGGGTC

\*Bin: segmento correspondiente a un intervalo de mapeo de aproximadamente 20 centiMorgans. La nomenclatura consiste en un número entero (par cromosómico) seguido por dos decimales. \*\*Datos obtenidos de la base de datos de maíz ([www.maizegdb.org](http://www.maizegdb.org)).

## M2.4. Amplificación y visualización de los productos de PCR

Todas las reacciones de amplificación por PCR se efectuaron en un volumen final de 25  $\mu$ l, partiendo de aproximadamente 45 ng de ADN molde. La mezcla de reacción estuvo compuesta por:

<i>Buffer</i> 10X (Invitrogen)	1X
Cl <sub>2</sub> Mg (Invitrogen)	1,5 mM
Desoxirribonucleótidos trifosfato (dNTPs)	200 $\mu$ M
Cebador <i>Forward</i>	40 ng
Cebador <i>Reverse</i>	40 ng
Taq Polimerasa (Invitrogen)	1 unidad
ADN genómico	1 $\mu$ l
H <sub>2</sub> O bidestilada estéril	hasta 25 $\mu$ l

Las amplificaciones se realizaron en un termociclador Eppendorf Mastercycler y en un equipo GenePro, usando programas de tipo *touchdown* según se detalla a continuación:

Desnaturalización inicial	94° C	4 min.
10 ciclos		
Desnaturalización	94° C	45 seg.
Hibridación (gradiente 1° C / ciclo)	60 – 58 ° C ó 60- 55 ° C	45 seg.
Extensión	72 ° C	45 seg.
20 ciclos		
Desnaturalización	94° C	45 seg.
Hibridación	58 ° C ó 55 ° C	45 seg.
Elongación	72 ° C	45 seg.
Extensión final	72 ° C	5 min.

La verificación de la presencia de productos de amplificación se realizó mediante electroforesis horizontal en geles de agarosa al 2% (p/v) como se

explicó anteriormente. Las muestras positivas fueron posteriormente analizadas en geles de poliacrilamida desnaturalizantes como se detalla a continuación.

### **M2.5. Electroforesis en geles de poliacrilamida**

La separación de los productos de amplificación se efectuó mediante electroforesis vertical en geles de poliacrilamida 6% (acrilamida-bisacrilamida 29:1) de 0,4 mm de espesor, en condiciones desnaturalizantes (ver apéndice). Se utilizó el equipo Sequi-Gen GT® de Bio-Rad. El armado de la cuba, la limpieza de los vidrios, así como la preparación de los geles se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante. El volumen de muestra sembrada por calle fue de 7 µl, compuesto por 5 µl de producto de amplificación y 2µl de *buffer* de siembra con formamida (ver apéndice). Previo a la siembra, las muestras fueron desnaturalizadas durante 9 minutos, utilizando para ello el termociclador o un baño térmico a 94 °C. Los geles fueron pre-corridos en *buffer* TBE 1X (ver apéndice) hasta alcanzar una temperatura de alrededor de 50 °C. Cada corrida electroforética se desarrolló entre 1-2 horas, dependiendo del tamaño de los fragmentos a separar, a una potencia constante de 60 W, con un voltaje variable entre 1.200 y 1.400 volts y control de temperatura (máx. 55° C). Cuando fue posible, los geles recibieron dos siembras diferidas en el tiempo (rango 15-40 min.) dependiendo del tamaño de los fragmentos sembrados.

### **M2.6. Tinción con Nitrato de Plata**

La visualización de las bandas (fragmentos amplificados) se realizó por tinción de los geles con nitrato de plata empleando el *kit Silver Sequence™ DNA Staining Reagents* (Promega) siguiendo las recomendaciones del fabricante. Los geles ya secos se digitalizaron utilizando un *scanner* convencional. La determinación de los tamaños alélicos se realizó analizando las imágenes digitalizadas, por comparación con amplicones generados a partir de extractos de ADN obtenidos por Lia (2004) y con el marcador de peso molecular de simple cadena *30-330 AFLP® DNA Ladder* (Invitrogen).

Asimismo, las muestras generadas aquí fueron utilizadas como referencia interna en los sucesivos geles.

### M3. Análisis de la diversidad

#### M3.1. Cálculo de las frecuencias alélicas

Las frecuencias alélicas fueron calculadas por conteo directo a partir de los genotipos individuales encontrados en cada una de las poblaciones, utilizando el programa FSTAT versión 2.9.3.2 (Goudet, 2001).

#### M3.2. Estimadores de diversidad genética

La variabilidad genética se estimó utilizando los siguientes parámetros: el número promedio de alelos por *locus* por población ( $A$ ), la riqueza alélica ( $R_S$ ), la heterocigosis media observada por *locus* ( $H_o$ ) y la heterocigosis media esperada por *locus* ( $H_e$ ).

El número promedio de alelos por *locus* por población ( $A$ ) se obtuvo calculando la media aritmética del número de alelos presentes en cada uno de los *loci* analizados para cada población.

El índice de riqueza alélica ( $R_S$ ) (El Mousadik & Petit, 1996) constituye una medida del número de alelos y, a diferencia de  $A$ , es independiente del tamaño muestral, siendo su fórmula:

$$R = \sum_i \left[ 1 - \frac{\binom{2N - Ni}{2n}}{\binom{2N}{2n}} \right]$$

Donde  $N_i$  = número de alelos de tipo  $i$  en el conjunto de  $2N$  genes.

El valor de  $R$  estima el número de alelos diferentes que se espera encontrar en una submuestra de tamaño  $2n$  tomada a partir de una población compuesta por  $2N$  genes ( $n \leq N$ ). Si la unidad en estudio es la población ( $R_S$ ), “ $n$ ” corresponde al número de individuos de aquel *locus* con menor cantidad de



genotipos y el “N” considerado es el tamaño de la población en cuestión. En cambio, si la unidad en estudio es el conjunto de poblaciones ( $R_T$ ), el N considerado es el número total de individuos analizados.

La heterocigosis esperada, o diversidad genética, fue calculada a partir de las frecuencias alélicas según la fórmula de Nei (1987):

$$H_e = (1/L) \sum 1 - \sum x_i^2$$

Donde:

L= número de *loci* analizados

$X_i$ = frecuencia de los i-alelos

Siendo  $0 < H_e < 1$ .

Los estadísticos  $R_s$ ,  $H_o$  y  $H_e$  fueron calculados utilizando el programa FSTAT (Goudet, 2001). La comparación estadística de los mismos entre los distintos conjuntos de datos se realizó a través del *test* de Wilcoxon implementado en el programa InfoStat versión 2008 (Di Rienzo *et al.*, 2008).

### **M3.3. Análisis de la estructura poblacional**

#### **M3.3.1. Equilibrio de Hardy-Weinberg**

El ajuste a las proporciones de Hardy-Weinberg se evaluó para cada *locus* y cada población. Las estimas del índice de fijación  $F_{IS}$  (Wright, 1965) fueron obtenidas de acuerdo con Weir y Cockerham (1984) utilizando el programa FSTAT. El nivel de significación se determinó mediante el *test* de permutaciones implementado en el mismo programa y luego se modificó de acuerdo con la corrección de Bonferroni (Rice, 1989) para comparaciones múltiples:

$$\alpha = 1 - (1 - \alpha')^n \text{ con } n = \text{número de comparaciones.}$$

### M3.3.2. Análisis de diferenciación genética entre poblaciones

Para llevar a cabo una adecuada evaluación estadística, y posterior interpretación evolutiva de los polimorfismos de *loci* microsatélites, es necesario el uso de modelos que permitan explicar el origen y el mantenimiento de los polimorfismos. La discusión acerca de la evolución de los *loci* microsatélites se centra fundamentalmente alrededor de los dos modelos cuyo desarrollo analítico posibilita su aplicación en estudios poblacionales: el modelo de alelos infinitos o IAM (del inglés *Infinite Allele Model* de Kimura & Crow, 1964), y el modelo de mutación de a pasos o SMM (del inglés *Stepwise Mutation Model* de Kimura & Ohta, 1978). El primero sugiere que las mutaciones involucran la pérdida o ganancia de varias unidades de repetición, siempre generando en la población alelos nuevos (Estoup & Cornuet, 1999). Contrariamente, el SMM sugiere que la mutación de los alelos microsatélites ocurre por la ganancia o pérdida de una única unidad repetitiva y entonces, los alelos pueden mutar hacia estados alélicos ya presentes en la población. Este proceso da como resultado alelos homoplásicos, o sea alelos que son idénticos en estado pero no idénticos por descendencia, dicho de otra manera, estos alelos no comparten un ancestro común. Otra diferencia fundamental entre ambos modelos es que en el SMM el tamaño de los alelos constituye una medida del grado de divergencia entre las poblaciones: cuanto mayor sea la diferencia entre los tamaños alélicos, se espera que el número de eventos mutacionales ocurridos desde la divergencia de un ancestro común sea mayor. Por el contrario, en el IAM este parámetro no provee ningún tipo de información; si las mutaciones resultan en uno de los  $k$  alelos posibles, la comparación entre estos dos alelos cualesquiera provee la misma información: al menos una mutación ha ocurrido desde el ancestro común, por lo tanto en este último caso el proceso mutacional no tiene “memoria”. Entonces, la comparación de los alelos microsatélites puede proporcionar dos tipos de información: la identidad o no identidad de los alelos y la diferencia en los tamaños alélicos.

Dado este escenario, para afrontar el análisis estadístico de los alelos microsatélites es necesario determinar a qué modelo de evolución ajustan mejor los datos, si al IAM o al SMM. Debido a que el mecanismo mutacional de

los *loci* microsatélites es del tipo SMM, el utilizar medidas de diferenciación poblacional clásicas basadas en la identidad de los alelos (por ejemplo:  $F_{ST}$ , distancia genética de Nei) podría provocar desvíos. En estos casos, la medida de diferenciación basada en diferencia de tamaños alélicos ( $R_{ST}$ ; Slatkin, 1995) sería la que mejor representa la diferenciación de los *loci* microsatélites. Sin embargo, esta última exhibe una varianza de muestreo alta. La eficiencia de los estadísticos basados en el tamaño alélico vs. aquellos basados en la identidad alélica, depende de las contribuciones relativas de los procesos de mutación, deriva y migración durante la divergencia de una población determinada.

Cabe mencionar que en muchos casos, a pesar de cumplirse estrictamente los supuestos del SMM, el tamaño de los alelos presentes en las diferentes poblaciones no resulta informativo con respecto al grado de diferenciación genética entre esas poblaciones. Se ha demostrado que cuando la tasa de mutación es mucho menor que la tasa de migración, o cuando el tiempo de divergencia entre las poblaciones es relativamente corto, las estimas de  $R_{ST}$  y  $F_{ST}$  tienden a convergir hacia el mismo valor (Hardy *et al.*, 2003). Por el contrario, en los casos en que las diferencias en los tamaños alélicos son efectivamente informativas,  $R_{ST}$  será mayor que  $F_{ST}$  (Slatkin, 1995), resultando inadecuada la utilización de este último estadístico debido a que llevaría a la subestimación de la diferenciación poblacional.

Con el propósito de seleccionar el estadístico más adecuado para el análisis de los *loci* microsatélites identificados previamente como SMM por Vigoroux *et al.* (2002), en las razas nativas de maíz de este trabajo se utilizó el *test* de permutación de tamaños alélicos (Hardy *et al.*, 2003) según se encuentra implementado en el programa SPAGeDi (Hardy & Vekemans, 2002). El principio en el que se basa este *test* es el de generar una distribución del estadístico  $R_{ST}$  asumiendo que las diferencias en los tamaños alélicos no contribuyen a la diferenciación entre las poblaciones. Utiliza un procedimiento de aleatorización basado en la permutación de tamaños entre categorías alélicas. Por ejemplo, dadas las categorías alélicas a, b, c y d de tamaños alélicos 2, 4, 8 y 11 respectivamente, el proceso de permutación reasignará los tamaños sin modificar la constitución original de los individuos (aa, bb, cc, ab, ac, etc.), calculando luego un nuevo  $R_{ST}$  por cada ronda ( $pR_{ST}$ ). La significación de la prueba se obtiene computando el número de  $pR_{ST}$  mayores al  $R_{ST}$

observado. Dado que el promedio de los  $pR_{ST}$  es igual al valor esperado de  $F_{ST}$  para el conjunto inicial de datos, este algoritmo permite poner a prueba la hipótesis nula  $H_0: F_{ST} = R_{ST}$ , con  $H_1: R_{ST} > F_{ST}$ . De aceptarse  $H_0$ ,  $F_{ST}$  será el estimador preferido por presentar menor varianza (Hardy *et al.*, 2003).

De acuerdo al resultado obtenido en el *test* de permutación de tamaños alélicos, el grado de diferenciación entre poblaciones se analizó bajo el **modelo de alelos infinitos**. Asumiendo este modelo como correcto, la estructura genética de las poblaciones fue analizada por medio del índice de Fijación  $F_{ST}$  de Wright (1965; 1978) estimado a través del estadístico  $\theta$  según el método de análisis de la varianza propuesto por Weir y Cockerham (1984). La significación de  $\theta$  se llevó a cabo mediante la permutación de genotipos en lugar de alelos. Las comparaciones múltiples fueron sometidas a la corrección de Bonferroni (Rice, 1989) detallada anteriormente.

### **M3.3.3. Análisis de la varianza molecular**

La partición de la variación genética dentro y entre las poblaciones fue evaluada mediante el análisis de la varianza molecular (AMOVA; Excoffier *et al.*, 1992; Excoffier, 2007) utilizando el programa GeneAIEx 6 (Peakall & Smouse, 2006). La significación estadística de cada componente de la varianza se evaluó en base a 999 permutaciones de los datos. Para este análisis se descartó el *locus bnlg1018* debido a que en la población 6614 posee el 95% de datos faltantes.

### **M3.3.4. Análisis de correlación entre distancias genéticas y geográficas**

La comparación entre las matrices de distancias genéticas y las distancias geográficas se llevó a cabo a través del *test* de Mantel provisto por el subprograma ISOLDE del paquete GENEPOP versión 3.4 (Raymond & Rousset, 1995).

### **M3.3.5. Poder discriminante de los *loci* microsatélites**

El poder discriminante de los *loci* microsatélites empleados se calculó utilizando el programa GeneAIEx 6. Se estimó tanto la probabilidad global de identidad (PI) como la probabilidad de identidad teniendo en cuenta la similitud entre hermanos (PIsibs), ambas calculadas de acuerdo a Waits *et al.* (2001).

## **M4. Análisis de agrupamiento**

### **M4.1. Método basado en distancia genética**

El análisis de agrupamiento poblacional se llevó a cabo a partir de la distancia genética de Reynolds *et al.* (1983). Esta medida de distancia se calcula en base al coeficiente de coancestría para poblaciones con tiempos de evolución relativamente cortos, en donde la divergencia entre poblaciones a partir de una población ancestral común puede considerarse ocasionada únicamente por la deriva. El cálculo de la matriz de distancias se realizó a partir de las frecuencias alélicas poblacionales, usando el programa PowerMarker versión 3.25 (Liu & Muse, 2005). Esta matriz fue importada al programa Splitstrees4 (Huson & Bryant, 2006) y utilizada para crear un dendrograma mediante el algoritmo de Neighbor-Joining (N-J) (Saitou & Nei, 1987). Las medidas de soporte de grupos se obtuvieron mediante el método de *bootstrapping* con 1000 pseudoréplicas, utilizando el PowerMarker. Los retículos fueron visualizados con el programa Dendroscope (Huson & Bryant, 2006).

## **M5. Análisis de la estructura poblacional en base al método bayesiano**

Pritchard *et al.* (2000) desarrollaron un método de análisis basado en la estadística Bayesiana, que utiliza genotipos multilocus individuales. Dentro de sus aplicaciones se destacan la evaluación de estructura poblacional, la

asignación de individuos a las poblaciones, así como la identificación de individuos migrantes. Asumiendo un número de poblaciones panmícticas (K), el método estima: las frecuencias alélicas para cada *locus* y población, y los coeficientes de asignación de los individuos a cada una de las poblaciones ideales. Dado que el valor de K es generalmente desconocido, permite identificar el valor K que maximiza la probabilidad de los datos, es decir, determinar el número de “acervos genéticos ideales” que componen la muestra en estudio sin necesidad de una delimitación *a priori* de las poblaciones. Debido a que este método no asume un proceso mutacional en particular, puede aplicarse a marcadores moleculares dominantes y codominantes

El análisis de estructura poblacional bajo el enfoque Bayesiano se llevó a cabo utilizando el programa STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000). El conjunto de datos fue evaluado para un rango de K entre 1 a 15 y un total de 10 réplicas para cada valor de K, realizándose  $10^6$  iteraciones tras un período de *burn-in* de  $10^5$ . Todos los análisis fueron realizados bajo el modelo de frecuencias alélicas independientes, sin considerar información acerca del origen de cada individuo. Además, se asumió que el genoma de cada individuo podía estar constituido por la contribución de una o más de las poblaciones inferidas (*admixture model*). Para la selección del valor óptimo de K se tuvo en cuenta la corrida que mostró la mayor probabilidad posterior de los datos. Asimismo, los resultados del STRUCTURE fueron evaluados también usando un criterio *ad-hoc* basado en la tasa de cambio del logaritmo de la probabilidad de los datos entre los sucesivos valores de K ( $\Delta K$ ) (Evanno *et al.*, 2005).

## M6. Método de distancias genéticas entre individuos

Se estudió el grado de similitud entre los individuos a través de la proporción de alelos compartidos utilizando el programa PowerMarker versión 3.25 (Liu & Muse, 2005), utilizándose como medida de distancia:

$$D_{AC} = -\ln \text{proporción de alelos compartidos}$$

Este índice no supone patrón mutacional alguno y su varianza es reducida (Goldstein *et al.*, 1995). Para establecer las relaciones entre los

individuos se realizó un agrupamiento según el método de N-J, tal como se describió anteriormente. Los valores de soporte de los grupos se obtuvieron por medio de *bootstrapping* (1000 pseudoréplicas).

## **M7. Estudios cromosómicos**

### **M7.1. Obtención y fijación de raíces primarias**

La presencia de cromosomas supernumerarios (cromosomas B) se analizó solo para las poblaciones de Misiones. Los granos de las distintas razas se germinaron en las mismas condiciones que se detallaron en la sección M2.1. Las raíces primarias de cada grano se dejaron crecer hasta que tuvieron un largo de aproximadamente 2 cm. Los ápices radiculares se pre-trataron con una solución de 8-hidroxiquinolina (8Q) 0,002 M, a temperatura ambiente durante 3-4 horas. Posteriormente, se realizaron 3 lavados de 10 minutos cada uno con agua destilada y se fijaron los ápices radiculares en una solución de alcohol etílico: ácido acético (3:1) entre 24 y 48 hs a 4°C. Finalmente, las raíces fueron guardadas a esta temperatura en alcohol 70% (v/v) hasta su utilización.

### **M7.2 Tinción cromosómica y microscopía**

Las preparaciones cromosómicas fueron realizadas mediante el método de *squash*. Para ello, cada ápice de raíz fue colocado sobre un portaobjetos con una gota de colorante hematoxilina acética al 2% (ver apéndice). Por medio de un tubo capilar se agregó una gota de una solución de citrato férrico (ver apéndice), que actúa como mordiente, y se colocó un cubreobjetos sobre el cual se ejerce una fuerza perpendicular para lograr el aplastado de los cromosomas y su ubicación aproximada en un mismo plano.

Los preparados fueron observados con un microscopio Leica bajo luz directa. Para evaluar la presencia de cromosomas B se analizaron de 4 a 10 individuos por mazorca y de 2 a 7 mazorcas por población, en al menos 10 células por individuo.

# RESULTADOS





## R1. Caracterización genética de razas nativas de maíz de Misiones

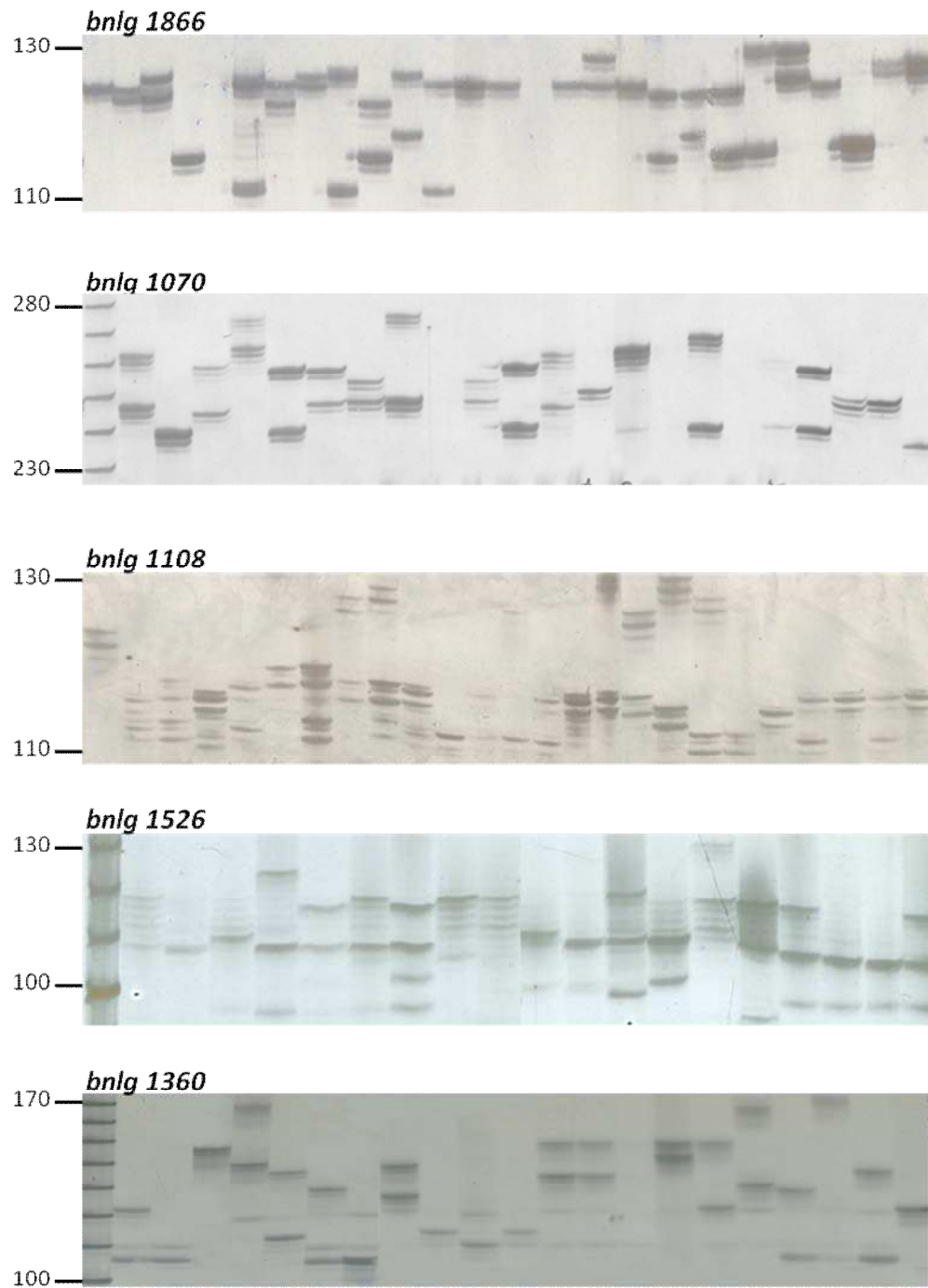
### R1.1. Variabilidad

El análisis de los 15 *loci* microsatélites analizados permitió detectar un total de 192 alelos en 467 individuos de 25 poblaciones (15 razas nativas), siendo el número promedio de alelos por *locus* 12,8 (rango: 5-26). Los *loci* más polimórficos fueron: *bnlg1866*, *bnlg1287*, *bnlg1209*, *bnlg1108*, *bnlg1070*, *bnlg1360*, *bnlg1108*, *bnlg1740* y *bnlg1526* (**tabla R1**). En la **figura R1** se presentan ejemplos de patrones de bandas para estos *loci*. Todos los *loci* SSR evaluados en esta Tesis evidenciaron una alta reproducibilidad. Para este conjunto de datos el total de datos faltantes fue de 4,2%.

**Tabla R1.** Variabilidad de *loci* SSR evaluados en las poblaciones de maíces de Misiones. FAM: Frecuencia del alelo mayoritario; PIC: índice de polimorfismo (*polymorphism information content*). N = 467

<i>Locus</i>	FAM	Número de genotipos	Número de observaciones	Número de alelos	H <sub>e</sub>	H <sub>o</sub>	PIC
<i>bnlg1866</i>	0,224	70	457	19	0,859	0,569	0,844
<i>phi037</i>	0,649	23	455	8	0,542	0,310	0,510
<i>bnlg 1182</i>	0,738	9	464	5	0,421	0,157	0,384
<i>bnlg 252</i>	0,383	28	457	8	0,728	0,346	0,685
<i>bnlg 1287</i>	0,305	22	459	9	0,759	0,521	0,717
<i>bnlg 1732</i>	0,914	7	465	5	0,162	0,146	0,158
<i>bnlg 1209</i>	0,293	45	463	12	0,840	0,523	0,823
<i>bnlg 1018</i>	0,388	25	389	10	0,739	0,378	0,700
<i>bnlg 1070</i>	0,317	73	452	20	0,838	0,442	0,823
<i>bnlg 1360</i>	0,364	74	438	26	0,820	0,272	0,805
<i>bnlg 105</i>	0,673	38	457	15	0,523	0,193	0,500
<i>bnlg 1108</i>	0,371	48	438	18	0,779	0,427	0,751
<i>bnlg 1329</i>	0,521	28	463	10	0,665	0,428	0,628
<i>bnlg 1740</i>	0,241	33	408	14	0,835	0,233	0,815
<i>bnlg 1526</i>	0,406	37	440	15	0,765	0,166	0,738
<b>Promedio</b>	<b>0,453</b>	<b>37,33</b>	<b>447</b>	<b>12,93</b>	<b>0,685</b>	<b>0,341</b>	<b>0,659</b>

Número de genotipos: número de genotipos distintos encontrados en la muestra.



**Figura R1.** Patrones electroforéticos correspondientes a los loci *bnlg1866*, *bnlg1070*, *bnlg1108*, *bnlg1526* y *bnlg1360*.

A nivel poblacional, el rango de alelos por *locus* por población (A) fue de 1,8 a 5,8; las poblaciones 6596 (Pipoca colorado) y RoB (Rosado) resultan ser las de menor y mayor números de alelos, respectivamente (**tabla R2**). Las estimas de heterocigosis media observada ( $H_o$ ) oscilaron entre 0,179 y 0,450 ( $H_o$  promedio: 0,348), mientras que la heterocigosis media esperada ( $H_e$ ) varió entre 0,226 y 0,687 ( $H_e$  promedio: 0,523) (**tabla R2**). Las poblaciones con el menor y mayor  $H_o$  fueron 6614 (Pororó grande) y 6586 (Blanco ancho), mientras que las de menor y mayor  $H_e$  resultaron ser 6618 (Pipoca colorado) y RoB, respectivamente.

Los valores de  $R_s$ , índice que tiene en cuenta las diferencias en los tamaños muestrales de las poblaciones, oscilaron entre 1,23 y 1,68 ( $R_s$  promedio: 1,52), obteniéndose el menor valor para la población 6618 y el mayor valor para la población RoB (**tabla R2**).

De acuerdo a lo indicado, los índices A,  $H_e$  y  $R_s$  describen a la población RoB como la de mayor variabilidad, mientras que la población 6614 es la menos diversa.

Considerando como alelos “exclusivos” a aquellos presentes sólo en una de las poblaciones y ausentes en las restantes, se contabilizó un total de 41 alelos exclusivos. La población con mayor número de alelos exclusivos resultó ser 6608 (con 5 alelos), seguida en orden decreciente de abundancia por las poblaciones 6605, RoB, 6592, RoA, 6593, 6611, 6619, 6614, BA, Co, 6585, 6610, 6595, 6617 y 6601. Las restantes poblaciones no presentaron este tipo de alelos (**tabla R2**).

En las **tablas A1-A6** del Apéndice se describen las frecuencias alélicas poblacionales de todos los *loci* microsatélites utilizados para este estudio.

**Tabla R2.** Diversidad genética de las poblaciones de razas nativas de maíz de Misiones.

Rango alélico: tamaños extremos, expresado en pares de bases. A: número de alelos por *locus* por población; entre paréntesis se indica el número de alelos exclusivos para cada población.  $H_o$ : heterocigosis observada.  $H_e$ : heterocigosis esperada.  $R_s$ : riqueza alélica (calculada en base a 8 individuos).

Raza Población	Locus														Promedio	
	<i>bnlg</i> 1866	<i>phi</i> 037	<i>bnlg</i> 1018	<i>bnlg</i> 1329	<i>bnlg</i> 1108	<i>bnlg</i> 1182	<i>bnlg</i> 252	<i>bnlg</i> 105	<i>bnlg</i> 1287	<i>bnlg</i> 1732	<i>bnlg</i> 1740	<i>bnlg</i> 1070	<i>bnlg</i> 1209	<i>bnlg</i> 1360		<i>bnlg</i> 1526
<b>Blanco ancho 6586 (N= 10)</b>																
Rango alélico	112 132	130 162	124 138	88 94	108 114	78 78	156 160	74 74	144 162	100 100	118 128	228 264	166 184	109 129	114 124	
A (0)	6	6	4	4	4	1	3	1	5	1	6	6	6	6	3	<b>4,13</b>
$H_o$	0,600	0,800	0,600	0,800	0,200	0	1,000	0	0,600	0	0,400	0,800	0,400	0,444	0,100	<b>0,450</b>
$H_e$	0,678	0,678	0,572	0,594	0,650	0	0,639	0	0,817	0	0,833	0,744	0,756	0,819	0,433	<b>0,548</b>
$R_s$	1,67	1,68	1,57	1,61	1,63	1,00	1,66	1,00	1,81	1,00	1,81	1,75	1,74	1,80	1,42	<b>1,54</b>
<b>Blanco ancho 6615 (N= 16)</b>																
Rango alélico	106 130	130 156	124 140	88 94	112 136	76 78	156 158	74 74	144 162	100 100	118 128	226 252	166 180	109 159	114 118	
A (0)	5	2	4	4	6	2	2	1	5	1	3	4	4	6	2	<b>3,40</b>
$H_o$	0,500	0	0,750	0,313	0,688	0	0,188	0	0,625	0	0,143	0,063	0,500	0,313	0,063	<b>0,276</b>
$H_e$	0,694	0,125	0,690	0,563	0,715	0,400	0,175	0	0,781	0	0,640	0,629	0,631	0,754	0,363	<b>0,477</b>
$R_s$	1,69	1,12	1,69	1,55	1,71	1,39	1,18	1,00	1,78	1,00	1,62	1,61	1,63	1,74	1,35	<b>1,47</b>
<b>Blanco ancho 6602 (N= 15)</b>																
Rango alélico	96 128	130 156	124 138	88 94	108 126	78 78	156 160	74 74	144 154	100 104	116 128	212 254	166 182	109 155	118 118	
A (0)	4	3	4	4	6	1	3	1	4	2	6	6	7	7	1	<b>3,93</b>
$H_o$	0,429	0,267	0,692	0,357	0,417	0	0,357	0	0,600	0,533	0,167	0,357	0,533	0,286	0	<b>0,333</b>
$H_e$	0,723	0,66	0,728	0,783	0,777	0	0,505	0	0,733	0,4	0,784	0,777	0,731	0,843	0	<b>0,563</b>
$R_s$	1,71	1,65	1,73	1,77	1,76	1,00	1,50	1,00	1,73	1,41	1,76	1,76	1,72	1,82	1,00	<b>1,55</b>

**Tabla R2.** Diversidad genética de las poblaciones de razas nativas de maíz de Misiones.

Rango alélico: tamaños extremos, expresado en pares de bases. A: número de alelos por *locus* por población; entre paréntesis se indica el número de alelos exclusivos para cada población.  $H_o$ : heterocigosis observada.  $H_e$ : heterocigosis esperada.  $R_s$ : riqueza alélica.

Raza Población	Locus															Promedio
	<i>bnlg</i> 1866	<i>phi</i> 037	<i>bnlg</i> 1018	<i>bnlg</i> 1329	<i>bnlg</i> 1108	<i>bnlg</i> 1182	<i>bnlg</i> 252	<i>bnlg</i> 105	<i>bnlg</i> 1287	<i>bnlg</i> 1732	<i>bnlg</i> 1740	<i>bnlg</i> 1070	<i>bnlg</i> 1209	<i>bnlg</i> 1360	<i>bnlg</i> 1526	
<b>Blanco angosto BA (N= 30)</b>																
Rango alélico	98 132	130 160	124 140	88 94	108 134	78 78	156 160	70 74	144 154	100 106	112 126	228 252	166 182	107 133	114 124	
A (2)	8	4	5	4	10	1	3	2	4	3	7	6	9	8	5	<b>5,27</b>
$H_o$	0,567	0,333	0,567	0,633	0,800	0	0,233	0,034	0,633	0,167	0,276	0,467	0,400	0,308	0,077	<b>0,366</b>
$H_e$	0,764	0,656	0,710	0,731	0,852	0	0,599	0,034	0,692	0,157	0,662	0,684	0,86	0,774	0,254	<b>0,562</b>
$R_s$	1,76	1,65	1,71	1,73	1,85	1,00	1,59	1,03	1,69	1,16	1,66	1,68	1,85	1,77	1,25	<b>1,56</b>
<b>Blanco angosto 6610 (N= 20)</b>																
Rango alélico	96 132	130 162	124 138	86 94	108 132	76 78	156 160	74 78	144 162	100 106	120 128	228 254	166 184	109 155	108 120	
A (1)	8	5	6	5	6	2	3	2	6	3	4	5	9	10	3	<b>5,13</b>
$H_o$	0,600	0,150	0,500	0,750	0,632	0	0,200	0,050	0,750	0,250	0,050	0,316	0,600	0,263	0,188	<b>0,353</b>
$H_e$	0,803	0,663	0,772	0,714	0,827	0,268	0,401	0,05	0,763	0,229	0,618	0,594	0,846	0,911	0,533	<b>0,599</b>
$R_s$	1,80	1,65	1,77	1,72	1,82	1,26	1,40	1,05	1,76	1,23	1,60	1,59	1,84	1,89	1,52	<b>1,59</b>
<b>Tupí blanco 6592 (N= 16)</b>																
Rango alélico	108 130	130 156	124 140	88 94	108 128	78 78	156 160	72 84	144 154	100 100	118 134	222 254	166 184	109 153	116 118	
A (3)	5	5	4	2	6	1	3	3	3	1	5	7	5	7	2	<b>3,93</b>
$H_o$	0,733	0,750	0,375	0,063	0,400	0	0,071	0,500	0,313	0	0,533	0,357	0,375	0,643	0	<b>0,341</b>
$H_e$	0,779	0,79	0,715	0,063	0,69	0	0,566	0,398	0,5	0	0,75	0,832	0,621	0,786	0,525	<b>0,534</b>
$R_s$	1,78	1,79	1,70	1,06	1,68	1,00	1,55	1,40	1,49	1,00	1,74	1,82	1,61	1,78	1,51	<b>1,53</b>

**Tabla R2.** Diversidad genética de las poblaciones de razas nativas de maíz de Misiones.

Rango alélico: tamaños extremos, expresado en pares de bases. A: número de alelos por *locus* por población; entre paréntesis se indica el número de alelos exclusivos para cada población.  $H_o$ : heterocigosis observada.  $H_e$ : heterocigosis esperada.  $R_s$ : riqueza alélica.

Raza Población	Locus															Promedio
	<i>bnlg</i> 1866	<i>phi</i> 037	<i>bnlg</i> 1018	<i>bnlg</i> 1329	<i>bnlg</i> 1108	<i>bnlg</i> 1182	<i>bnlg</i> 252	<i>bnlg</i> 105	<i>bnlg</i> 1287	<i>bnlg</i> 1732	<i>bnlg</i> 1740	<i>bnlg</i> 1070	<i>bnlg</i> 1209	<i>bnlg</i> 1360	<i>bnlg</i> 1526	
<b>Overo 6595 (N= 8)</b>																
Rango alélico	112 130	130 156	136 138	88 94	108 134	76 78	154 160	74 86	144 154	100 104	122 128	228 254	166 186	109 131	120 124	–
A (1)	5	4	2	4	6	2	3	3	3	2	3	6	6	6	2	<b>3,80</b>
$H_o$	0,625	0,500	0,429	1,000	0,500	0	0,625	0,250	0,500	0,125	0,143	0,375	0,750	0,375	0	<b>0,413</b>
$H_e$	0,652	0,777	0,548	0,723	0,875	0,250	0,625	0,598	0,688	0,125	0,571	0,821	0,857	0,839	0,286	<b>0,616</b>
$R_s$	1,65	1,76	1,54	1,74	1,85	1,23	1,63	1,58	1,68	1,13	1,54	1,79	1,85	1,81	1,26	<b>1,60</b>
<b>Overo 6617 (N= 10)</b>																
Rango alélico	108 130	130 162	124 140	86 108	108 130	78 78	154 162	72 78	144 154	100 104	122 128	212 252	172 182	113 131	116 120	–
A (1)	5	4	5	5	5	1	5	3	3	2	3	6	6	7	2	<b>4,13</b>
$H_o$	0,500	0,300	0,600	0,700	0,600	0	0,500	0,400	0,300	0,200	0,111	0,300	0,900	0,700	0,300	<b>0,427</b>
$H_e$	0,506	0,644	0,756	0,722	0,567	0	0,767	0,706	0,478	0,189	0,569	0,794	0,850	0,867	0,400	<b>0,588</b>
$R_s$	1,51	1,63	1,75	1,72	1,57	1,00	1,75	1,69	1,47	1,19	1,54	1,77	1,85	1,86	1,40	<b>1,58</b>
<b>Overo 6601 (N= 16)</b>																
Rango alélico	96 132	130 162	124 138	88 94	108 132	78 78	156 160	74 78	144 154	100 106	120 130	212 248	166 180	109 155	114 144	–
A (1)	7	6	3	4	7	1	3	2	5	2	5	8	6	5	7	<b>4,73</b>
$H_o$	0,867	0,500	0,267	0,563	0,571	0	0,188	0,133	0,313	0,063	0,313	0,625	0,250	0,429	0,133	<b>0,348</b>
$H_e$	0,755	0,760	0,531	0,756	0,775	0	0,671	0,338	0,769	0,063	0,717	0,823	0,704	0,761	0,900	<b>0,622</b>
$R_s$	1,76	1,75	1,52	1,75	1,77	1,00	1,66	1,33	1,75	1,06	1,70	1,82	1,69	1,75	1,87	<b>1,61</b>

**Tabla R2.** Diversidad genética de las poblaciones de razas nativas de maíz de Misiones.

Rango alélico: tamaños extremos, expresado en pares de bases. A: número de alelos por *locus* por población; entre paréntesis se indica el número de alelos exclusivos para cada población.  $H_o$ : heterocigosis observada.  $H_e$ : heterocigosis esperada.  $R_s$ : riqueza alélica.

Raza Población	Locus															Promedio
	<i>bnlg</i>	<i>phi</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	
	1866	037	1018	1329	1108	1182	252	105	1287	1732	1740	1070	1209	1360	1526	
<b>Colorado de Misiones</b>																
<b>Co (N= 20)</b>																
Rango alélico	112	130	124	88	108	76	156	72	144	100	116	212	166	109	112	—
	132	162	140	94	130	78	162	78	154	106	128	256	184	129	120	
A (2)	6	5	5	4	3	2	4	3	4	2	5	8	8	9	5	<b>4,87</b>
$H_o$	0,650	0,450	0,400	0,250	0,611	0	0,300	0,300	0,300	0,200	0,389	0,450	0,700	0,474	0,158	<b>0,375</b>
$H_e$	0,811	0,708	0,651	0,584	0,529	0,100	0,583	0,345	0,761	0,184	0,757	0,655	0,842	0,901	0,719	<b>0,609</b>
$R_s$	1,81	1,70	1,65	1,58	1,53	1,10	1,58	1,34	1,75	1,19	1,75	1,65	1,84	1,89	1,70	<b>1,60</b>
<b>Colorado de Misiones</b>																
<b>6604 (N= 12)</b>																
Rango alélico	96	130	124	88	108	76	154	70	144	100	124	222	166	109	114	—
	132	162	138	94	132	78	160	86	154	106	128	254	184	131	120	
A (0)	8	4	4	3	8	2	4	4	4	2	3	7	9	5	4	<b>4,73</b>
$H_o$	0,833	0,556	0,500	0,333	0,400	0,083	0,250	0,417	0,333	0,083	0,273	0,667	0,800	0,300	0,364	<b>0,413</b>
$H_e$	0,686	0,708	0,754	0,299	0,883	0,356	0,591	0,424	0,795	0,083	0,555	0,761	0,889	0,683	0,532	<b>0,600</b>
$R_s$	1,69	1,70	1,74	1,30	1,86	1,34	1,58	1,42	1,78	1,08	1,54	1,76	1,88	1,66	1,52	<b>1,59</b>
<b>Azul de Misiones</b>																
<b>6597 (N= 20)</b>																
Rango alélico	112	130	138	88	108	76	156	70	144	100	118	228	166	109	118	—
	128	162	138	92	134	78	160	78	154	100	124	254	184	131	124	
A (0)	5	5	1	3	6	2	3	3	3	1	4	4	6	7	3	<b>3,73</b>
$H_o$	0,850	0,684	0	0,300	0,556	0,200	0,050	0,100	0,750	0	0,111	0,450	0,450	0,350	0,111	<b>0,331</b>
$H_e$	0,763	0,661	0	0,267	0,709	0,389	0,550	0,099	0,675	0	0,745	0,604	0,614	0,507	0,299	<b>0,459</b>
$R_s$	1,77	1,66	1,00	1,27	1,71	1,39	1,54	1,10	1,68	1,00	1,73	1,60	1,61	1,50	1,29	<b>1,46</b>

**Tabla R2.** Diversidad genética de las poblaciones de razas nativas de maíz de Misiones.

Rango alélico: tamaños extremos, expresado en pares de bases. A: número de alelos por *locus* por población; entre paréntesis se indica el número de alelos exclusivos para cada población.  $H_o$ : heterocigosis observada.  $H_e$ : heterocigosis esperada.  $R_s$ : riqueza alélica.

Raza Población	Locus															Promedio
	<i>bnlg</i> 1866	<i>phi</i> 037	<i>bnlg</i> 1018	<i>bnlg</i> 1329	<i>bnlg</i> 1108	<i>bnlg</i> 1182	<i>bnlg</i> 252	<i>bnlg</i> 105	<i>bnlg</i> 1287	<i>bnlg</i> 1732	<i>bnlg</i> 1740	<i>bnlg</i> 1070	<i>bnlg</i> 1209	<i>bnlg</i> 1360	<i>bnlg</i> 1526	
<b>Variegado 6585 (N= 20)</b>																
Rango alélico	110 132	130 162	124 140	88 92	108 116	76 78	154 160	70 74	144 156	100 100	118 128	228 264	160 184	109 141	106 120	–
A (2)	7	6	5	3	4	2	4	2	5	1	4	6	8	9	4	<b>4,67</b>
$H_o$	0,632	0,529	0,353	0,368	0,333	0,053	0,053	0,053	0,526	0	0,077	0,263	0,526	0,263	0,211	<b>0,283</b>
$H_e$	0,633	0,713	0,726	0,526	0,502	0,053	0,734	0,053	0,681	0	0,603	0,841	0,844	0,776	0,501	<b>0,546</b>
$R_s$	1,63	1,71	1,72	1,52	1,50	1,05	1,72	1,05	1,68	1,00	1,58	1,83	1,84	1,76	1,49	<b>1,54</b>
<b>Rosado RoA (N= 20)</b>																
Rango alélico	106 138	130 156	124 140	88 92	112 136	76 78	156 160	74 98	144 166	100 102	116 128	228 252	166 180	109 149	112 122	–
A (3)	9	3	4	3	7	2	3	7	5	2	6	7	6	11	7	<b>5,47</b>
$H_o$	0,789	0,211	0,400	0,300	0,500	0,158	0,350	0,200	0,800	0,100	0,474	0,450	0,632	0,300	0,100	<b>0,384</b>
$H_e$	0,855	0,197	0,664	0,546	0,632	0,377	0,680	0,574	0,778	0,097	0,699	0,801	0,807	0,841	0,721	<b>0,618</b>
$R_s$	1,85	1,20	1,66	1,54	1,63	1,37	1,67	1,56	1,78	1,10	1,69	1,79	1,80	1,83	1,71	<b>1,61</b>
<b>Rosado RoB (N= 20)</b>																
Rango alélico	98 132	130 156	124 138	86 98	110 122	76 78	156 160	72 104	144 158	100 104	118 128	228 252	166 182	109 163	110 118	–
A (4)	10	3	5	6	5	2	3	9	6	3	5	9	6	11	4	<b>5,80</b>
$H_o$	0,632	0,316	0,538	0,947	0,529	0,050	0,400	0,450	0,684	0,211	0,444	0,550	0,550	0,063	0,105	<b>0,431</b>
$H_e$	0,795	0,431	0,814	0,800	0,794	0,229	0,620	0,901	0,751	0,367	0,549	0,772	0,797	0,933	0,756	<b>0,687</b>
$R_s$	1,79	1,43	1,80	1,80	1,79	1,22	1,61	1,89	1,75	1,36	1,55	1,77	1,79	1,91	1,74	<b>1,68</b>



**Tabla R2.** Diversidad genética de las poblaciones de razas nativas de maíz de Misiones.

Rango alélico: tamaños extremos, expresado en pares de bases. A: número de alelos por *locus* por población; entre paréntesis se indica el número de alelos exclusivos para cada población.  $H_o$ : heterocigosis observada.  $H_e$ : heterocigosis esperada.  $R_s$ : riqueza alélica.

Raza Población	Locus															Promedio
	<i>bnlg</i>	<i>phi</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	<i>bnlg</i>	
<b>Amarillo angosto 6593 (N= 28)</b>	1866	037	1018	1329	1108	1182	252	105	1287	1732	1740	1070	1209	1360	1526	
Rango alélico	112	130	134	88	108	76	154	70	144	100	118	212	166	109	104	–
	128	136	142	94	134	78	160	98	156	106	126	250	180	161	130	
A (3)	4	4	5	4	8	2	4	7	5	3	4	7	5	11	8	<b>5,40</b>
$H_o$	0,464	0,407	0,545	0,571	0,536	0,111	0,679	0,286	0,520	0,321	0,320	0,679	0,643	0,192	0,400	<b>0,445</b>
$H_e$	0,434	0,395	0,582	0,540	0,782	0,472	0,745	0,722	0,741	0,279	0,476	0,694	0,667	0,917	0,757	<b>0,614</b>
$R_s$	1,43	1,40	1,58	1,54	1,78	1,47	1,74	1,71	1,74	1,28	1,47	1,69	1,67	1,90	1,75	<b>1,61</b>
<b>Amarillo angosto 6591 (N= 16)</b>																
Rango alélico	98	130	134	88	116	78	156	74	144	100	118	228	176	111	112	–
	140	156	140	94	134	78	160	92	154	106	122	250	180	141	120	
A (0)	6	3	4	4	4	1	3	3	4	2	3	4	3	5	5	<b>3,60</b>
$H_o$	0,250	0,357	0,625	0,563	0,200	0	0,188	0,533	0,313	0,313	0,154	0,375	0,625	0,375	0	<b>0,325</b>
$H_e$	0,673	0,319	0,768	0,723	0,414	0	0,579	0,560	0,665	0,271	0,506	0,429	0,481	0,756	0,782	<b>0,528</b>
$R_s$	1,66	1,32	1,76	1,72	1,41	1,00	1,57	1,56	1,65	1,27	1,49	1,43	1,49	1,74	1,75	<b>1,52</b>
<b>Amarillo ancho 6611 (N= 24)</b>																
Rango alélico	114	130	134	88	110	76	156	74	144	100	118	228	166	109	112	–
	140	156	140	96	116	78	164	106	166	102	128	242	184	133	122	
A (3)	7	3	4	5	3	2	5	9	5	2	6	4	8	6	6	<b>5,00</b>
$H_o$	0,591	0,417	0,643	0,652	0,400	0,042	0,565	0,500	0,409	0,130	0,235	0,389	0,583	0,333	0,273	<b>0,411</b>
$H_e$	0,702	0,400	0,626	0,673	0,672	0,121	0,799	0,822	0,571	0,267	0,849	0,596	0,819	0,779	0,684	<b>0,625</b>
$R_s$	1,70	1,40	1,63	1,67	1,67	1,12	1,79	1,82	1,57	1,26	1,83	1,59	1,81	1,77	1,67	<b>1,62</b>

**Tabla R2.** Diversidad genética de las poblaciones de razas nativas de maíz de Misiones.

Rango alélico: tamaños extremos, expresado en pares de bases. A: número de alelos por *locus* por población; entre paréntesis se indica el número de alelos exclusivos para cada población.  $H_o$ : heterocigosis observada.  $H_e$ : heterocigosis esperada.  $R_s$ : riqueza alélica.

Raza Población	Locus															Promedio
	<i>bnlg</i> 1866	<i>phi</i> 037	<i>bnlg</i> 1018	<i>bnlg</i> 1329	<i>bnlg</i> 1108	<i>bnlg</i> 1182	<i>bnlg</i> 252	<i>bnlg</i> 105	<i>bnlg</i> 1287	<i>bnlg</i> 1732	<i>bnlg</i> 1740	<i>bnlg</i> 1070	<i>bnlg</i> 1209	<i>bnlg</i> 1360	<i>bnlg</i> 1526	
<b>Tupí amarillo 6619 (N= 16)</b>																
Rango alélico	106 126	130 156	114 136	86 96	110 124	76 78	152 162	72 92	150 162	98 106	116 128	228 258	172 184	109 159	112 124	–
A (3)	8	3	5	6	5	2	4	3	4	2	5	6	5	11	6	<b>5,00</b>
$H_o$	0,667	0,267	0,538	0,500	0,286	0,200	0,333	0,067	0,533	0,400	0,333	0,500	0,533	0,462	0,429	<b>0,403</b>
$H_e$	0,845	0,245	0,699	0,728	0,330	0,290	0,489	0,195	0,512	0,329	0,739	0,788	0,450	0,827	0,810	<b>0,552</b>
$R_s$	1,84	1,25	1,69	1,72	1,33	1,29	1,48	1,19	1,51	1,33	1,72	1,78	1,45	1,81	1,80	<b>1,57</b>
<b>Tupí amarillo 6608 (N= 20)</b>																
Rango alélico	108 130	130 160	132 136	86 98	112 130	74 78	152 162	72 96	144 156	100 100	110 122	222 248	166 182	109 141	108 146	–
A (5)	7	3	3	5	4	3	5	4	5	5	4	10	7	11	6	<b>5,47</b>
$H_o$	0,529	0,611	0,267	0,611	0,200	0,176	0,118	0	0,667	0,667	0,308	0,556	0,667	0,375	0,444	<b>0,413</b>
$H_e$	0,873	0,461	0,352	0,701	0,362	0,423	0,675	0,399	0,748	0,606	0,692	0,882	0,791	0,896	0,766	<b>0,642</b>
$R_s$	1,86	1,47	1,35	1,70	1,36	1,42	1,66	1,39	1,75	1,61	1,68	1,87	1,79	1,88	1,76	<b>1,64</b>
<b>Pipoca colorado 6596 (N= 20)</b>																
Rango alélico	122 128	130 130	134 134	88 88	112 114	78 80	150 158	72 74	144 154	100 100	120 120	212 246	172 176	109 109	114 114	–
A (0)	2	1	1	1	2	2	3	2	4	1	1	3	2	1	1	<b>1,80</b>
$H_o$	0,400	0	0	0	0,550	0,250	0,600	0,250	0,850	0	0	0,500	0,250	0	0	<b>0,243</b>
$H_e$	0,384	0	0	0	0,405	0,224	0,607	0,508	0,650	0	0	0,676	0,224	0	0	<b>0,245</b>
$R_s$	1,39	1,00	1,00	1,00	1,41	1,22	1,61	1,50	1,66	1,00	1,00	1,67	1,22	1,00	1,00	<b>1,25</b>

**Tabla R2.** Diversidad genética de las poblaciones de razas nativas de maíz de Misiones.

Rango alélico: tamaños extremos, expresado en pares de bases. A: número de alelos por *locus* por población; entre paréntesis se indica el número de alelos exclusivos para cada población.  $H_o$ : heterocigosis observada.  $H_e$ : heterocigosis esperada.  $R_s$ : riqueza alélica.

Raza Población	Locus															Promedio
	<i>bnlg</i> 1866	<i>phi</i> 037	<i>bnlg</i> 1018	<i>bnlg</i> 1329	<i>bnlg</i> 1108	<i>bnlg</i> 1182	<i>bnlg</i> 252	<i>bnlg</i> 105	<i>bnlg</i> 1287	<i>bnlg</i> 1732	<i>bnlg</i> 1740	<i>bnlg</i> 1070	<i>bnlg</i> 1209	<i>bnlg</i> 1360	<i>bnlg</i> 1526	
<b>Pipoca colorado</b>																
<b>6618 (N= 30)</b>																
Rango alélico	122	130	134	88	108	76	150	72	144	100	120	235	172	109	114	–
	130	130	134	88	130	80	158	74	154	100	162	246	176	109	122	
A (0)	3	1	1	2	3	3	2	2	2	1	2	3	2	1	3	<b>2,07</b>
$H_o$	0,862	0	0	0,034	0,034	0,414	0,172	0,107	0,138	0	0,111	0,241	0,607	0	0,103	<b>0,188</b>
$H_e$	0,601	0	0	0,034	0,069	0,460	0,217	0,516	0,131	0	0,107	0,278	0,454	0	0,521	<b>0,226</b>
$R_s$	1,61	1,00	1,00	1,03	1,07	1,46	1,22	1,51	1,13	1,00	1,11	1,28	1,46	1,00	1,51	<b>1,23</b>
<b>Pipoca amarillo</b>																
<b>6605 (N= 20)</b>																
Rango alélico	110	130	118	88	112	78	154	74	144	100	120	212	166	109	108	–
	128	130	136	96	130	100	156	90	154	100	164	246	182	141	118	
A (4)	7	1	3	3	3	3	3	2	4	1	6	5	4	4	4	<b>3,40</b>
$H_o$	0,550	0	0,053	0,550	0,200	0,450	0,400	0,278	0,684	0	0,222	0,350	0,400	0,278	0,250	<b>0,311</b>
$H_e$	0,721	0	0,287	0,666	0,491	0,466	0,433	0,324	0,554	0	0,647	0,429	0,493	0,245	0,645	<b>0,427</b>
$R_s$	1,72	1,00	1,28	1,66	1,48	1,47	1,43	1,32	1,56	1,00	1,64	1,43	1,49	1,25	1,64	<b>1,42</b>
<b>Pororó grande</b>																
<b>6614 (N= 20)</b>																
Rango alélico	120	130	134	88	106	78	150	72	144	100	116	232	168	109	144	–
	122	130	134	104	116	80	156	80	154	100	116	264	182	121	144	
A (3)	2	1	1	4	4	2	4	3	2	1	1	4	3	3	1	<b>2,40</b>
$H_o$	0,000	0	0	0,250	0,200	0,450	0,895	0,053	0,053	0	0	0,389	0,350	0,053	0	<b>0,179</b>
$H_e$	0,1	0	NA	0,745	0,234	0,482	0,658	0,105	0,053	0	0	0,598	0,308	0,447	0	<b>0,266</b>
$R_s$	1,10	1,00	1,00	1,73	1,23	1,48	1,66	1,10	1,05	1,00	1,00	1,59	1,31	1,44	1,00	<b>1,25</b>

**Tabla R2.** Diversidad genética de las poblaciones de razas nativas de maíz de Misiones.

Rango alélico: tamaños extremos, expresado en pares de bases. A: número de alelos por *locus* por población; entre paréntesis se indica el número de alelos exclusivos para cada población.  $H_o$ : heterocigosis observada.  $H_e$ : heterocigosis esperada.  $R_s$ : riqueza alélica.

Raza Población	Locus															Promedio
	<i>bnlg</i> 1866	<i>phi</i> 037	<i>bnlg</i> 1018	<i>bnlg</i> 1329	<i>bnlg</i> 1108	<i>bnlg</i> 1182	<i>bnlg</i> 252	<i>bnlg</i> 105	<i>bnlg</i> 1287	<i>bnlg</i> 1732	<i>bnlg</i> 1740	<i>bnlg</i> 1070	<i>bnlg</i> 1209	<i>bnlg</i> 1360	<i>bnlg</i> 1526	
<b>Pororó azul 6607 (N= 25)</b>																
Rango alélico	122 128	130 132	124 140	88 88	108 110	78 80	150 158	74 74	144 154	100 100	120 162	212 246	168 180	109 109	114 118	–
A (0)	2	2	5	1	5	2	4	1	3	1	2	6	4	1	3	<b>2,80</b>
$H_o$	0,217	0,080	0,188	0	0,292	0,720	0,250	0	0,680	0	0,211	0,600	0,400	0	0,261	<b>0,260</b>
$H_e$	0,265	0,078	0,394	0	0,399	0,465	0,716	0	0,603	0	0,485	0,703	0,441	0	0,274	<b>0,322</b>
$R_s$	1,26	1,08	1,39	1,00	1,40	1,47	1,71	1,00	1,61	1,00	1,48	1,70	1,44	1,00	1,27	<b>1,32</b>

---

## R1.2. Estructura poblacional

### R1.2.1. Equilibrio de Hardy-Weinberg

De las 25 poblaciones analizadas, únicamente la población 6596 exhibió ajuste a las proporciones de Hardy-Weinberg tanto en el análisis de *locus* individuales como en el de las estimas globales del índice  $F_{IS}$  (**tabla R3**). A diferencia de ésta, la población 6595 exhibe ajuste al desarrollo del polinomio en el análisis de *locus* individuales, mientras que a nivel global se observa un exceso de homocigotas. Para las restantes poblaciones se obtuvieron valores de  $F_{IS}$  globales positivos y significativos, indicando un exceso de homocigotas con respecto a lo esperado bajo la hipótesis de unión al azar de las gametas. Lo mismo puede observarse en el análisis de *locus* individuales de las poblaciones restantes, siendo también significativo el exceso de homocigotas (**tabla R3**). Por el contrario, no se observó exceso de heterocigotas en ninguna de las poblaciones ni *loci* analizados.

**Tabla R3.** Ajuste a las proporciones de Hardy-Weinberg en las poblaciones de razas nativas de Misiones.Las celdas coloreadas indican exceso de homocigotas una vez realizada la corrección de Bonferroni; \* $p < 0,05$ . Significación establecida mediante el método de permutaciones.

NA: no aplicable.

Locus	Poblaciones																								
	6586	6615	6602	BA	6610	6592	6595	6617	6601	Co	6604	6597	6585	RoA	RoB	6593	6591	6611	6619	6608	6596	6605	6618	6614	6607
<i>bnlg1866</i>	0,115	0,279	0,407	0,259	0,252	0,058	0,041	0,011	-0,148	0,198	-0,215	-0,114	0,002	0,077	0,206	-0,070	0,628	0,159	0,211	0,394	-0,041	0,237	-0,434	1,000	0,179
<i>phi037</i>	-0,180	1,000	0,596	0,492	0,774	0,050	0,356	0,534	0,342	0,364	0,216	-0,035	0,258	-0,067	0,268	-0,032	-0,121	-0,041	-0,087	-0,326	NA	NA	NA	NA	-0,021
<i>bnlg1182</i>	NA	1,000	NA	NA	1,000	NA	1,000	NA	NA	1,000	0,766	0,486	0,000	0,581	0,782	0,764	NA	0,657	0,311	0,583	-0,118	0,034	0,100	0,066	-0,548
<i>bnlg252</i>	-0,565	-0,071	0,293	0,610	0,502	0,874	0,000	0,348	0,720	0,485	0,577	0,909	0,928	0,485	0,355	0,089	0,676	0,293	0,318	0,826	0,011	0,076	0,205	-0,360	0,651
<i>bnlg 1287</i>	0,265	0,200	0,182	0,085	0,017	0,375	0,273	0,372	0,593	0,606	0,581	-0,111	0,227	-0,029	0,089	0,298	0,530	0,284	-0,042	0,109	-0,308	-0,235	-0,057	0,000	-0,127
<i>bnlg 1732</i>	NA	NA	-0,333	-0,058	-0,092	NA	0,000	-0,059	0,000	-0,086	0,000	NA	NA	-0,027	0,426	-0,152	-0,154	0,511	-0,217	-0,100	NA	NA	NA	NA	NA
<i>bnlg 1209</i>	0,471	0,208	0,270	0,535	0,291	0,396	0,125	-0,059	0,645	0,169	0,100	0,268	0,376	0,217	0,310	0,036	-0,299	0,288	-0,185	0,157	-0,118	0,189	-0,338	-0,137	0,093
<i>bnlg 1018</i>	-0,049	-0,088	0,048	0,202	0,353	0,475	0,217	0,206	0,498	0,386	0,337	NA	0,514	0,398	0,339	0,063	0,186	-0,026	0,229	0,243	NA	0,816	NA	NA	0,524
<i>bnlg 1070</i>	-0,075	0,901	0,541	0,318	0,468	0,571	0,543	0,622	0,241	0,313	0,124	0,255	0,687	0,438	0,288	0,023	0,126	0,348	0,365	0,370	0,261	0,184	0,133	0,350	0,146
<i>bnlg 1360</i>	0,458	0,586	0,661	0,602	0,711	0,182	0,553	0,192	0,437	0,474	0,561	0,309	0,661	0,643	0,933	0,790	0,504	0,572	0,442	0,581	NA	-0,133	NA	0,882	NA
<i>bnlg 105</i>	NA	NA	NA	0,000	0,000	-0,257	0,582	0,433	0,606	0,130	0,018	-0,013	0,000	0,651	0,501	0,604	0,047	0,392	0,659	1,000	0,508	0,141	0,792	0,500	NA
<i>bnlg 1108</i>	0,692	0,038	0,463	0,061	0,237	0,421	0,429	-0,059	0,262	-0,154	0,547	0,217	0,336	0,297	0,333	0,315	0,517	0,405	0,133	0,447	-0,357	0,592	0,500	0,146	0,270
<i>bnlg 1329</i>	-0,346	0,444	0,544	0,134	-0,050	0,000	-0,383	0,031	0,256	0,572	-0,114	-0,123	0,300	0,451	-0,185	-0,058	0,222	0,031	0,313	0,128	NA	0,174	0,000	0,664	NA
<i>bnlg 1740</i>	0,520	0,777	0,787	0,583	0,919	0,289	0,750	0,805	0,564	0,486	0,508	0,851	0,872	0,322	0,190	0,327	0,696	0,723	0,549	0,556	NA	0,657	-0,040	NA	0,566
<i>bnlg 1526</i>	0,769	0,828	NA	0,697	0,648	1,000	1,000	0,250	0,852	0,780	0,316	0,628	0,580	0,861	0,861	0,471	1,000	0,601	0,471	0,420	NA	0,612	0,801	NA	0,047
<b>F<sub>IS</sub> global</b>	0,179*	0,421*	0,408*	0,348*	0,411*	0,362*	0,329*	0,273*	0,441*	0,383*	0,312*	0,279*	0,482*	0,384*	0,373*	0,275*	0,386*	0,343*	0,269*	0,357*	0,008	0,271*	0,166*	0,278*	0,192*

### R1.2.2. Diferenciación genética

El análisis de la estructura poblacional se realizó mediante el índice de fijación  $F_{ST}$  de Wright (1965, 1978). Este estadístico resultó ser el más adecuado ya que, como se mencionara en Materiales y Métodos, la diferencia en los tamaños alélicos de los *loci* evaluados no aporta información acerca del grado de divergencia entre las poblaciones.

La estima global del índice  $F_{ST}$  arrojó un valor de 0,266 (intervalo de confianza al 95% (I.C.95%=0,237–0,298; I.C.99% =0,229–0,309) indicando un alto grado de diferenciación entre las poblaciones. Es así que, la variación entre poblaciones constituye el 26,6% de la variación total, mientras que 73,4% corresponde a la variación dentro de las poblaciones. El 67,3% de las comparaciones entre pares de poblaciones resultaron ser altamente significativas (**tabla R4**, diagonal superior). Los valores de diferenciación más altos corresponden al par de poblaciones 6595-6618, pertenecientes a las razas Overo y Pipoca colorado; mientras que el par de poblaciones menos diferenciadas es 6610-6602 (razas Blanco angosto y Blanco ancho, respectivamente).

En la **tabla R4** (diagonal inferior) se indican los valores de distancia genética de Reynolds *et al.* (1983) obtenidos para cada par de poblaciones. La distancia media entre todos los pares de poblaciones fue de 0,280. El valor mínimo de distancia hallado fue para el par de poblaciones 6610–6602 ( $D=0,088$ ) de las razas Blanco angosto y Blanco ancho, respectivamente; mientras que el par de poblaciones con la mayor distancia genética fue 6614-6618 ( $D=0,608$ ) de las razas Pororó grande y Pipoca colorado, respectivamente. Cabe destacar que las razas con granos del tipo reventador presentan los valores de diferenciación más altos.

Por otra parte, el análisis de correlación entre diferenciación genética ( $F_{ST}/1- F_{ST}$ ) y distancias geográficas (ln distancias entre aldeas, en kilómetros) indicó ausencia de asociación entre estas variables (test de Mantel,  $r= 0,2$ ,  $p>0.05$ ) (ver **tabla A31** para detalle de distancias geográficas entre las aldeas).

**Tabla R4.** Diferenciación genética entre las poblaciones de maíces de Misiones.Diagonal superior:  $F_{ST}$  pareado (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; NA: no aplicable). Diagonal inferior: distancia genética de Reynolds *et al.* (1983).

	6586	6615	6602	BA	6610	6592	6595	6617	6601	Co	6604	6597	6585	RoA	RoB	6593	6591	6611	6619	6608	6596	6605	6618	6614	6607
<b>6586</b>	-	0,177**	0,077	0,054**	0,073**	0,155**	0,156	0,182*	0,128*	0,078**	0,062	0,201**	0,079**	0,155*	0,116	0,198**	0,228	0,136*	0,276	0,221	0,488**	0,306**	0,488**	0,470 <sup>NA</sup>	0,394*
<b>6615</b>	0,219	-	0,158**	0,147**	0,145**	0,240**	0,261*	0,240**	0,161**	0,167**	0,182*	0,222**	0,158**	0,109**	0,153**	0,203**	0,232	0,190**	0,275	0,231*	0,452**	0,272**	0,449**	0,470 <sup>NA</sup>	0,376**
<b>6602</b>	0,130	0,198	-	0,058*	0,046*	0,176**	0,121	0,199*	0,109*	0,079*	0,069	0,163**	0,102*	0,117*	0,117*	0,165**	0,187	0,171	0,258	0,259*	0,492**	0,308**	0,499**	0,424 <sup>NA</sup>	0,411*
<b>BA</b>	0,096	0,179	0,092	-	0,076**	0,176**	0,149*	0,206**	0,083**	0,075**	0,079	0,158**	0,104**	0,125**	0,116**	0,193**	0,191*	0,138**	0,272*	0,248**	0,439**	0,266**	0,433**	0,432 <sup>NA</sup>	0,370**
<b>6610</b>	0,122	0,181	0,088	0,102	-	0,144**	0,076	0,154**	0,067**	0,060**	0,050	0,157**	0,108**	0,106**	0,082**	0,163**	0,159	0,145**	0,265*	0,235**	0,444**	0,279**	0,462**	0,396 <sup>NA</sup>	0,373*
<b>6592</b>	0,200	0,274	0,216	0,205	0,180	-	0,169	0,195*	0,153**	0,149**	0,106	0,176**	0,116**	0,157**	0,184*	0,238**	0,247	0,191*	0,257	0,242*	0,490**	0,370**	0,516**	0,456 <sup>NA</sup>	0,412*
<b>6595</b>	0,216	0,301	0,180	0,191	0,133	0,22	-	0,167	0,099	0,114*	0,086	0,214*	0,148	0,159	0,108	0,164*	0,170	0,168	0,268	0,242	0,534	0,376*	0,573*	0,464 <sup>NA</sup>	0,459
<b>6617</b>	0,233	0,278	0,245	0,240	0,199	0,237	0,228	-	0,122**	0,140**	0,176	0,294**	0,179*	0,119**	0,142*	0,215**	0,229	0,165*	0,247	0,219*	0,498**	0,384*	0,507**	0,443 <sup>NA</sup>	0,416*
<b>6601</b>	0,179	0,199	0,153	0,113	0,106	0,192	0,161	0,173	-	0,070**	0,100	0,191**	0,127**	0,095*	0,101*	0,175**	0,153	0,118*	0,235	0,218*	0,435**	0,300**	0,463**	0,391 <sup>NA</sup>	0,361
<b>Co</b>	0,126	0,202	0,120	0,102	0,094	0,184	0,169	0,185	0,108	-	0,045	0,117**	0,100**	0,092**	0,120**	0,174**	0,170	0,163**	0,258*	0,229**	0,404**	0,304**	0,416**	0,405 <sup>NA</sup>	0,331**
<b>6604</b>	0,119	0,221	0,121	0,116	0,097	0,152	0,152	0,227	0,149	0,091	-	0,162	0,067	0,133	0,100	0,159	0,184	0,141	0,231	0,224	0,463*	0,311	0,479**	0,453 <sup>NA</sup>	0,372
<b>6597</b>	0,233	0,252	0,195	0,186	0,186	0,207	0,248	0,320	0,220	0,148	0,195	-	0,170**	0,152**	0,236**	0,280**	0,290	0,266**	0,366*	0,322**	0,496**	0,395**	0,498**	0,465 <sup>NA</sup>	0,432*
<b>6585</b>	0,129	0,195	0,144	0,133	0,143	0,155	0,200	0,222	0,164	0,135	0,114	0,201	-	0,112*	0,151**	0,196**	0,184	0,137**	0,239*	0,219*	0,430**	0,278**	0,432**	0,430 <sup>NA</sup>	0,341**
<b>RoA</b>	0,200	0,146	0,155	0,149	0,138	0,192	0,210	0,166	0,131	0,125	0,174	0,180	0,147	-	0,100*	0,131**	0,156	0,131*	0,200	0,203*	0,379**	0,261**	0,388**	0,375 <sup>NA</sup>	0,314*
<b>RoB</b>	0,165	0,190	0,158	0,140	0,116	0,219	0,166	0,189	0,138	0,151	0,145	0,261	0,183	0,132	-	0,102**	0,116	0,090*	0,159	0,127	0,391**	0,250**	0,427**	0,407 <sup>NA</sup>	0,346
<b>6593</b>	0,238	0,235	0,197	0,213	0,189	0,268	0,209	0,252	0,203	0,199	0,194	0,305	0,223	0,155	0,128	-	0,174	0,166*	0,195*	0,191**	0,412**	0,278**	0,436**	0,403 <sup>NA</sup>	0,373**
<b>6591</b>	0,270	0,267	0,226	0,222	0,197	0,283	0,222	0,271	0,194	0,206	0,226	0,313	0,221	0,192	0,158	0,206	-	0,152	0,231	0,193	0,507	0,351	0,538**	0,499 <sup>NA</sup>	0,438
<b>6611</b>	0,181	0,225	0,208	0,161	0,175	0,225	0,218	0,208	0,152	0,192	0,182	0,291	0,170	0,160	0,121	0,189	0,188	-	0,172	0,158*	0,424**	0,268**	0,443**	0,416 <sup>NA</sup>	0,362*
<b>6619</b>	0,315	0,307	0,294	0,299	0,298	0,291	0,313	0,288	0,271	0,291	0,269	0,387	0,274	0,234	0,198	0,226	0,267	0,208	0,101	0,415*	0,336	0,478**	0,465 <sup>NA</sup>	0,382	
<b>6608</b>	0,267	0,266	0,295	0,269	0,266	0,277	0,292	0,263	0,252	0,258	0,264	0,345	0,251	0,232	0,162	0,216	0,229	0,189	0,142	-	0,393**	0,302*	0,427**	0,417 <sup>NA</sup>	0,368
<b>6596</b>	0,477	0,464	0,495	0,473	0,463	0,497	0,509	0,485	0,444	0,424	0,453	0,512	0,446	0,398	0,405	0,443	0,508	0,446	0,420	0,406	-	0,348**	0,247**	0,573 <sup>NA</sup>	0,098**
<b>6605</b>	0,329	0,299	0,332	0,292	0,305	0,391	0,394	0,402	0,322	0,329	0,330	0,416	0,304	0,286	0,274	0,305	0,372	0,295	0,357	0,326	0,369	-	0,410**	0,469 <sup>NA</sup>	0,292*
<b>6618</b>	0,452	0,439	0,475	0,448	0,456	0,497	0,520	0,467	0,443	0,410	0,442	0,494	0,424	0,382	0,412	0,444	0,516	0,439	0,454	0,412	0,263	0,608	-	0,600 <sup>NA</sup>	0,285**
<b>6614</b>	0,460	0,482	0,444	0,477	0,427	0,486	0,475	0,457	0,435	0,442	0,456	0,529	0,448	0,422	0,426	0,429	0,511	0,452	0,468	0,426	0,587	0,296	0,608	-	0,520 <sup>NA</sup>
<b>6607</b>	0,393	0,390	0,416	0,393	0,386	0,421	0,446	0,412	0,368	0,346	0,370	0,443	0,356	0,329	0,355	0,393	0,444	0,380	0,389	0,376	0,122	0,608	0,296	0,524	-



### R1.2.3. Análisis de la Varianza Molecular

El AMOVA se llevó a cabo para evaluar el efecto del sitio de colección y de la asignación racial en la distribución de la variación genética. En primer lugar, se consideró como el nivel jerárquico más alto a las aldeas de las comunidades guaraníes, y posteriormente, a la identificación racial. El primer análisis reveló que el 68% de la variación genética reside dentro de las poblaciones, el 29% entre las poblaciones de cada aldea, mientras que sólo el 3% de la variación radica entre las aldeas (**tabla R5**). Cuando se tomaron las razas como el nivel jerárquico más alto, el análisis reveló, que el 68% de la variabilidad genética reside dentro de las poblaciones, mientras que el 13% entre las poblaciones dentro de las razas y el 19% de la variación entre las razas (**tabla R6**).

**Tabla R5.** Análisis de la varianza molecular entre aldeas.

\*comparaciones significativas ( $p < 0,001$ ). g.l.: grados de libertad.

Fuente de variación	g.l.	% de la variación total	$\phi$
Entre aldeas	4	3%	0,035*
Entre poblaciones dentro de las aldeas	20	29%	0,296*
Dentro de poblaciones	442	68%	0,320*

**Tabla R6.** Análisis de la varianza molecular entre razas.

\*comparaciones significativas ( $p < 0,001$ ). g.l.: grados de libertad.

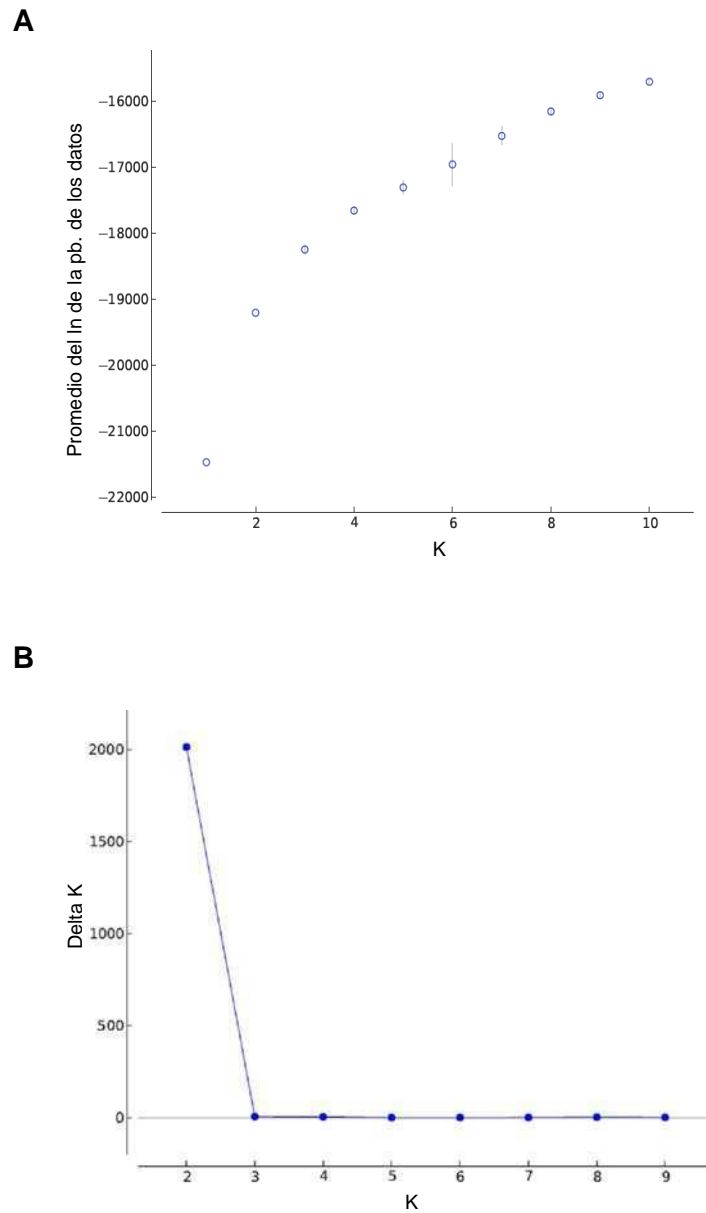
Fuente de variación	g.l.	% de la variación total	$\phi$
Entre razas	14	19%	0,186*
Entre poblaciones dentro de cada raza	10	13%	0,162*
Dentro de poblaciones	442	68%	0,318*

### R1.2.4. Análisis de genotipos multilocus individuales

El análisis Bayesiano de la estructura poblacional en el conjunto de individuos de Misiones se llevó a cabo considerando los 15 *loci* descriptos en M2.3. Para ello, los individuos fueron analizados sin dar información de su población de origen, así como tampoco del número de poblaciones incluidas. La pertenencia de los

individuos a una población ideal o acervo génico (K) se determinó fijando un valor arbitrario del 60%. De esta manera, los individuos cuyo genoma presentara una contribución mayor al 60% de cualquiera de las poblaciones ideales identificadas por el análisis, fueron considerados integrantes de la misma.

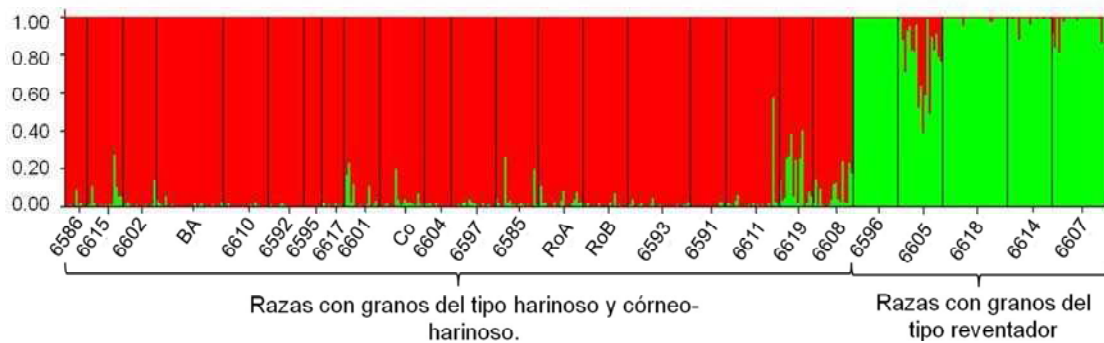
Utilizando el criterio de elección del valor óptimo del estadístico K, propuesto por Pritchard *et al.* (2000), el número de acervos génicos o poblaciones ideales (K) no pudo establecerse en forma inequívoca (**figura R2A**). Sin embargo, la evaluación de K mediante el criterio desarrollado por Evanno *et al.* (2005) permitió identificar a K=2 como el valor óptimo (**figura R2B**). Para dicho valor de K, los individuos se agrupan de acuerdo a la consistencia del grano: por un lado reventadores y por el otro harinosos y córneo-harinosos. A pesar de tratarse de una clasificación informal, la consistencia del grano es uno de los caracteres más relevantes tenidos en cuenta en la determinación taxonómica de las razas de maíces.



**Figura R2.** Análisis Bayesiano. Estimación del número de acervos génicos o poblaciones ideales ( $K$ ) para los individuos de Misiones. **A.**  $\ln(D/K)$  en función de  $K$  (Pritchard *et al.*, 2000). Cada punto es el promedio de las 10 repeticiones; las líneas de cada punto son el desvío estándar. **B.** Tasa de cambio en la probabilidad del logaritmo de los datos entre los sucesivos valores de  $K$  ( $\Delta K$ ) (Evanno *et al.*, 2005).

En la **figura R3** se muestra la representación gráfica de las particiones obtenidas para  $K=2$ . El promedio de los coeficientes de pertenencia de los individuos a cada grupo son superiores al 92%, con excepción de la población 6619

que presentó un coeficiente de pertenencia promedio del 85% y de la población 6605 cuyo valor fue de 79,33%, con un 20% de sus individuos asignados a otro acervo génico. Cabe destacar que las poblaciones de las razas del tipo reventador, excepto 6605, son altamente homogéneas a lo largo de los sucesivos K analizados, presentando un coeficiente de pertenencia a su conjunto superior al 97%.



**Figura R3.** Análisis de estructura poblacional de los individuos de Misiones. Cada individuo está representado por una línea vertical coloreada; los colores indican la contribución de cada una de las poblaciones inferidas (K) en la constitución de los genomas individuales. Las líneas negras delimitan las poblaciones de origen.

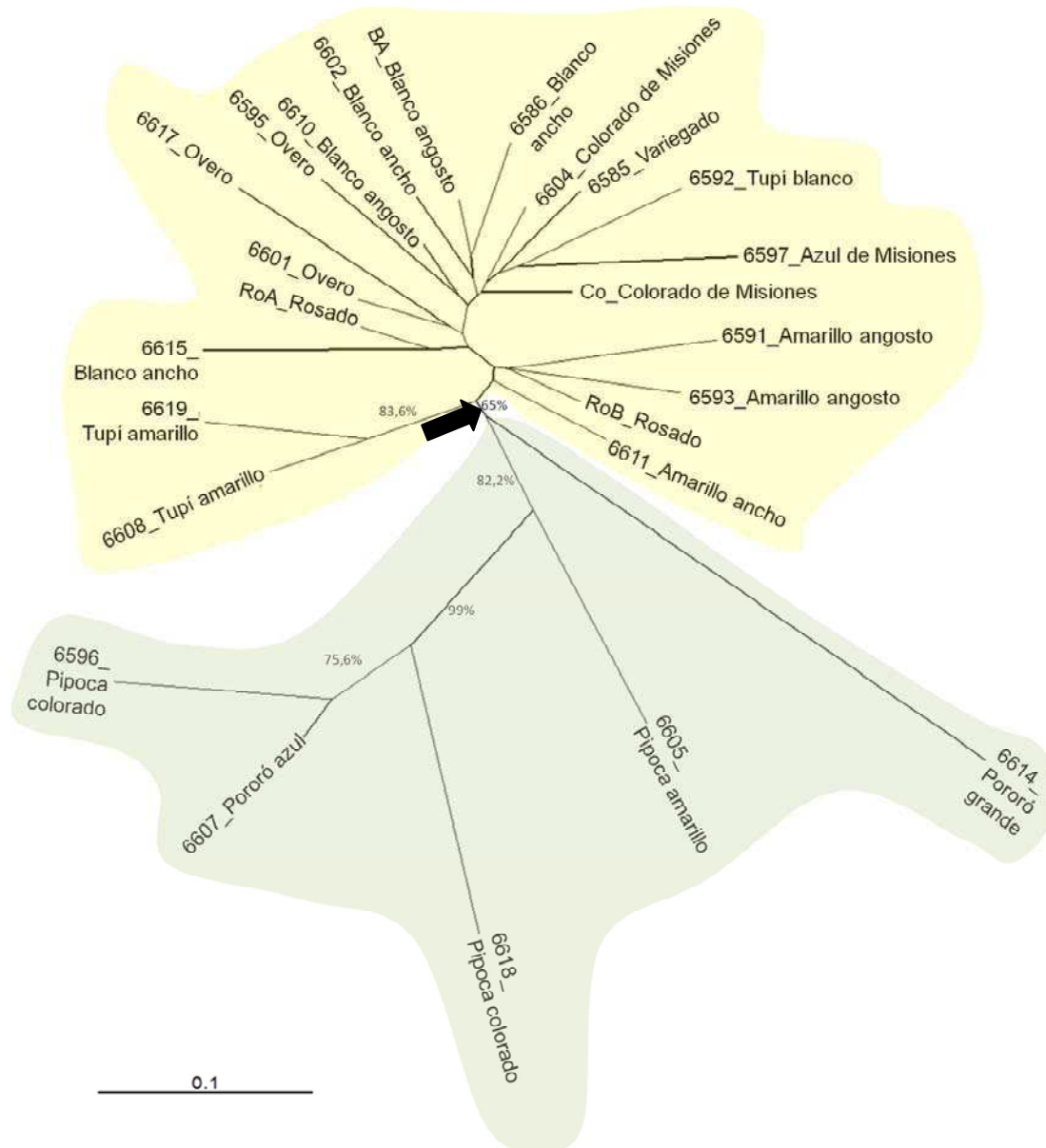
El agrupamiento de N-J empleando el índice de distancias de alelos compartidos (Dac) no permitió detectar ningún tipo de patrón de agrupamiento en particular ya que todos los individuos aparecen entremezclados (datos no mostrados).

### R1.3. Análisis de agrupamiento poblacional

El retículo de N-J poblacional basado en los valores de distancia genética de Reynolds *et al.* (1983), muestra dos grandes particiones: las poblaciones de maíces con granos de tipo reventador y las poblaciones de razas con granos harinosos y córneo-harinosos (**figura R4**; 65% de apoyo). Sin embargo, dentro de estos agrupamientos no se reconoce un patrón de relaciones claro entre las poblaciones

analizadas. Se destaca la longitud de las ramas dentro del agrupamiento formado por los maíces reventadores. Dentro de este conjunto, conformado por las poblaciones 6596, 6607 y 6618, de las razas Pipoca colorado y Pororó azul, presentó el mayor soporte (99%), en tanto que dentro del grupo de las razas de maíces harinosos y córneo-harinosos las poblaciones de Tupí amarillo son las únicas que exhiben un apoyo de consideración (83,6%).

Las dos grandes particiones observadas en el retículo de N-J concuerdan con el esquema de fragmentación obtenido en el análisis de genotipos multilocus individuales para  $K=2$  (**figura R4**).



**Figura R4.** Retículo de Neighbor-Joining obtenido en base a la distancia genética de Reynolds *et al.* (1983). Los números sobre las ramas indican los valores de apoyo de grupos (*bootstrapping* con 1000 pseudoréplicas). La flecha negra indica las dos grandes particiones discutidas en el texto. El sombreado amarillo abarca a las razas harinosas y córneo-harinosas y el sombreado verde a las razas reventadoras.

A partir de los resultados obtenidos en el análisis de agrupamiento, se realizó un AMOVA considerando como nivel jerárquico más alto a los dos grandes grupos de razas, es decir, razas con granos del tipo harinoso y córneo-harinoso vs. razas con granos del tipo reventador. Este análisis reveló que el 61% de la variación reside dentro de las poblaciones, mientras que el 20% entre las poblaciones dentro de cada grupo de razas y el 19% de la variación se debe a diferencias entre ambos grupos de razas (**tabla R7**).

**Tabla R7.** Análisis de la varianza molecular entre razas con granos del tipo harinosos y córneo-harinosos vs reventadores.

\*comparaciones significativas ( $p < 0,001$ ). g.l.: grados de libertad.

Fuente de variación	g.l.	% de la variación total	$\phi$
Entre grupos	1	19%	0,191*
Entre poblaciones dentro de cada grupo	23	20%	0,251*
Dentro de poblaciones	442	61%	0,394*

## R2. Caracterización genética de razas nativas de maíz del NEA conservadas en el Banco de Germoplasma EEA INTA Pergamino.

Debido a que se contó con un escaso número de individuos (1-7 por entrada) para este conjunto de datos, inicialmente se analizó la diversidad genética a nivel global y, posteriormente, se analizó de acuerdo al origen geográfico de colección de cada entrada.

### R2.1. Variabilidad

Dado que el conjunto de datos del Banco de Germoplasma no constituyen poblaciones naturales, su análisis formal se restringió al número de alelos por *locus*,  $H_o$  y  $H_e$ . El análisis de 15 *loci* microsatélites en 107 individuos (21 entradas) de nueve razas nativas, permitió detectar un total de 175 alelos, siendo el número promedio de alelos por *locus* 11,67 (rango: 2-33) (**tabla R8**). Las estimas promedio

de  $H_o$  y  $H_e$  fueron 0,497 y 0,706, respectivamente. Los *loci* que presentan un mayor polimorfismo son *bnlg1866*, *bnlg1287*, *bnlg1209*, *bnlg1018*, *bnlg1070*, *bnlg1360*, *bnlg1108* y *bnlg1526* (**tabla R8**). Para las entradas del Banco de Germoplasma el total de datos faltantes fue del 6%.

En las **tablas A7-A12** del Apéndice se describen las frecuencias alélicas para este conjunto de materiales.

**Tabla R8.** Variabilidad de *loci* SSR en las entradas de maíz del Banco de Germoplasma de Pergamino. FAM: Frecuencia del alelo mayoritario; PIC: índice de polimorfismo (*polymorphism information content*). N= 107.

<i>Locus</i>	FAM	Número de genotipos	Número de observaciones	Número de alelos	$H_e$	$H_o$	PIC
<i>bnlg1866</i>	0,178	47	457	14	0,893	0,769	0,884
<i>phi037</i>	0,563	14	455	7	0,601	0,709	0,548
<i>bnlg 1182</i>	0,839	3	464	2	0,271	0,219	0,234
<i>bnlg 252</i>	0,379	21	457	7	0,735	0,466	0,694
<i>bnlg 1287</i>	0,351	20	459	8	0,761	0,808	0,724
<i>bnlg 1732</i>	0,840	6	465	5	0,279	0,245	0,257
<i>bnlg 1209</i>	0,205	41	463	12	0,874	0,630	0,861
<i>bnlg 1018</i>	0,284	31	389	11	0,825	0,568	0,804
<i>bnlg 1070</i>	0,178	54	452	19	0,897	0,673	0,888
<i>bnlg 1360</i>	0,087	64	438	33	0,951	0,605	0,948
<i>bnlg 105</i>	0,413	13	457	7	0,697	0,214	0,646
<i>bnlg 1108</i>	0,359	22	438	11	0,761	0,291	0,725
<i>bnlg 1329</i>	0,430	22	463	10	0,726	0,640	0,689
<i>bnlg 1740</i>	0,723	19	408	15	0,464	0,218	0,451
<i>bnlg 1526</i>	0,255	35	440	14	0,857	0,398	0,843
<b>Promedio</b>	<b>0,406</b>	<b>27,47</b>	<b>447</b>	<b>11,67</b>	<b>0,706</b>	<b>0,497</b>	<b>0,680</b>

Número de genotipos: número de genotipos distintos encontrados en la muestra.

En segunda instancia, el análisis de la variabilidad genética de las entradas del Banco de Germoplasma se realizó agrupando los individuos de acuerdo al origen geográfico de colección de cada entrada. Los índices de variabilidad obtenidos se muestran en la **tabla R9**. Las entradas de las Provincias de Corrientes y Chaco tienen el mayor A (en este caso se define como número alelos por *locus* por provincia), mientras que la Provincia de Corrientes exhibió la mayor  $H_o$ , sin



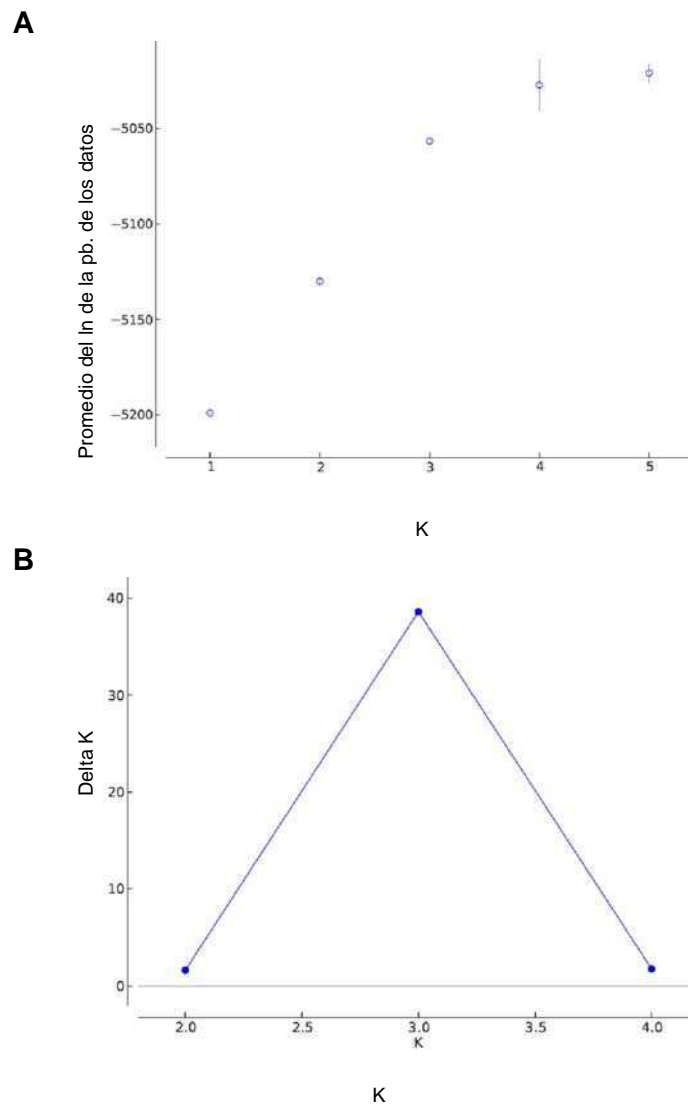
embargo el valor más alto de  $H_e$  fue el de las entradas de la Provincia de Formosa. El mayor índice de  $R_s$  se obtuvo para el grupo de entradas de la Provincia de Entre Ríos.

**Tabla R9.** Diversidad genética de las entradas de razas de maíz provenientes del Banco de Germoplasma, para las diferentes provincias.  $R_s$  calculada en base a 9 individuos.

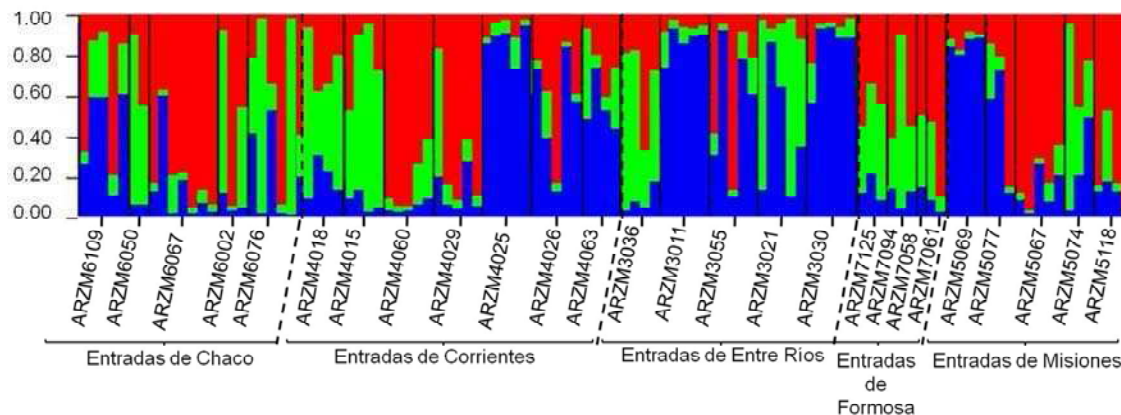
	<b>N</b>	<b>A</b>	<b>H<sub>o</sub></b>	<b>H<sub>e</sub></b>	<b>R<sub>s</sub></b>
<b>Chaco</b>	22	7,5	0,441	0,673	4,94
<b>Corrientes</b>	33	8,2	0,527	0,697	4,80
<b>Entre Ríos</b>	24	8,2	0,507	0,705	5,03
<b>Formosa</b>	9	5,2	0,517	0,709	4,68
<b>Misiones</b>	19	6,3	0,482	0,696	4,59

## R2.2. Análisis de genotipos multilocus individuales

Con el fin de establecer el patrón de asociación entre las razas de maíz correspondientes a las entradas del Banco de Germoplasma, se llevó a cabo el análisis del genotipo multilocus de los individuos utilizando el método Bayesiano y el de distancia de alelos compartidos (Dac). En el primer caso, la determinación del K óptimo pudo establecerse siguiendo los criterios propuestos por Pritchard *et al.* (2000) y de Evanno *et al.* (2005), como se explicó en el apartado M5, siendo el valor óptimo  $K=3$  (**figura R5A y B; R6**). No se detectaron agrupamientos concordantes con las razas, así como tampoco con el origen geográfico de colección. Un resultado semejante se obtuvo al realizar el agrupamiento de N-J empleando el índice Dac (datos no mostrados). En dicho retículo los individuos aparecen entremezclados, y no se detecta ningún patrón de agrupamiento particular.



**Figura R5.** Estimación del número de acervos génicos o poblaciones ideales para las entradas del Banco de Germoplasma EEA INTA Pergamino. **A.**  $\ln(D/K)$  en función de  $K$  (Pritchard *et al.*, 2000). Cada punto es el promedio de las 10 repeticiones; las líneas en cada punto representan el desvío estándar. **B.** Tasa de cambio en la probabilidad del logaritmo de los datos entre los sucesivos valores de  $K$  ( $\Delta K$ ) (Evanno *et al.*, 2005).



**Figura R6.** Análisis de estructura poblacional de las entradas del Banco de Germoplasma EEA INTA Pergamino. Cada individuo está representado por una línea vertical coloreada; los colores indican la contribución de cada una de las poblaciones inferidas (K) en la constitución de los genomas individuales. Las líneas negras delimitan las entradas de origen.

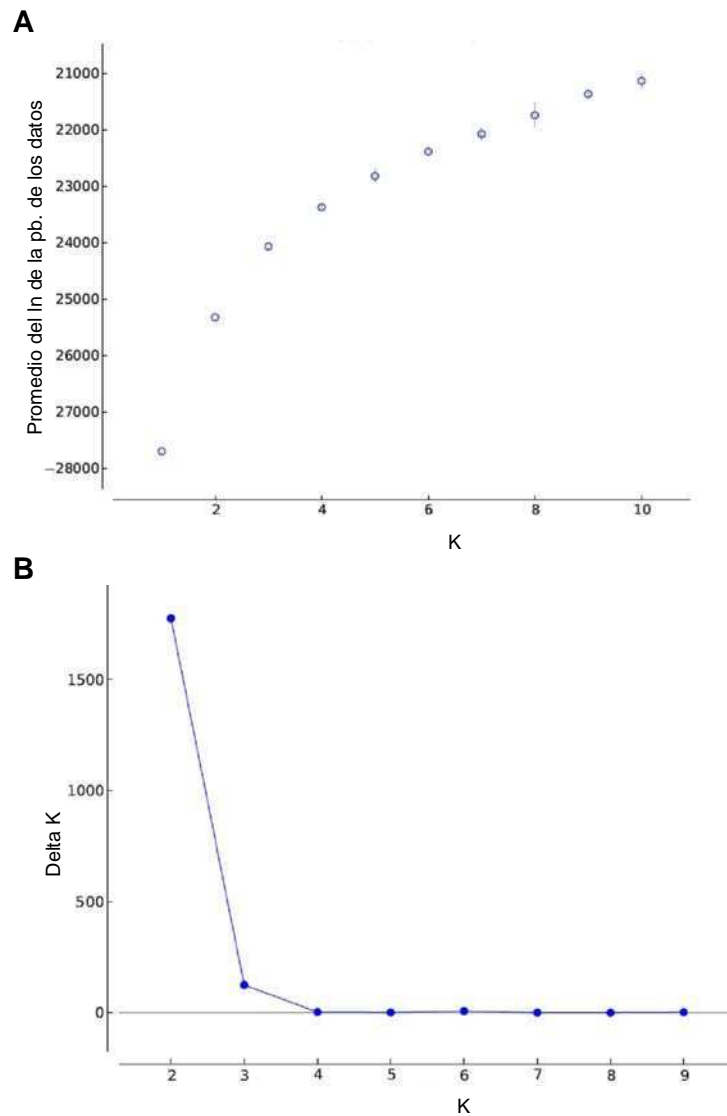
### R3. Análisis de las razas de maíz del NEA

De manera de poder comparar los datos de variabilidad genética del Banco de Germoplasma con los correspondientes a las poblaciones de Misiones, se calculó el índice de  $R_s$  considerando sendos conjuntos de datos alélicos y sin distinguir entre poblaciones o entradas. Así, la  $R_s$  para el conjunto de entradas del Banco de Germoplasma arrojó un valor promedio de 11,43, mientras que para el conjunto de las poblaciones de Misiones este valor fue 10,24. Los valores obtenidos no presentan diferencias significativas entre sí (*Test* de Wilcoxon para muestras independientes,  $p > 0,05$ ).

Comparando ambos conjuntos de datos, se halló que 26 alelos de 175 están sólo presentes en las entradas del Banco de Germoplasma; mientras que 44 alelos de 192 fueron detectados exclusivamente en las poblaciones de Misiones.

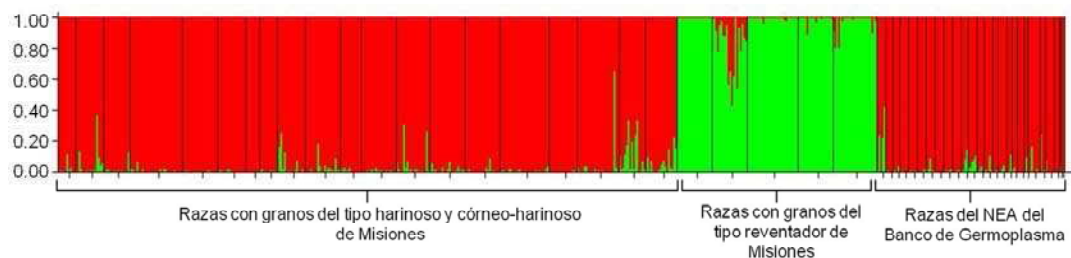
Luego, para obtener un esquema general del patrón de estructuración de las razas de maíces en la región del NEA, se realizó un análisis integral de genotipos multilocus usando ambos conjuntos de datos (razas de Misiones y razas del Banco de Germoplasma). En este caso no fue posible establecer el número de acervos

génicos o “poblaciones” ( $K$ ) de forma inequívoca mediante el criterio de elección del valor óptimo del  $\ln(D/K)$  (**figura R7A**). Sin embargo, la asignación del  $K$  óptimo mediante el criterio de Evanno *et al.* (2005), permitió identificar a  $K=2$  como el valor óptimo (**figura R7B**).



**Figura R7.** Estimación del número de acervos génicos o poblaciones ideales para los individuos del NEA. **A.**  $\ln(D/K)$  en función de  $K$  (Pritchard *et al.*, 2000). Cada punto es el promedio de las 10 repeticiones; las líneas de cada punto son el desvío estándar. **B.** Tasa de cambio en la probabilidad del logaritmo de los datos entre los sucesivos valores de  $K$  ( $\Delta K$ ) (Evanno *et al.*, 2005).

En la **figura R8** se muestra la representación gráfica de las particiones obtenidas para  $K=2$ . Como puede observarse, en color verde queda determinado un grupo formado por todas las poblaciones de Misiones que poseen granos del tipo reventador, y el grupo complementario está integrado por todas las poblaciones de Misiones con granos de consistencia harinosa (con y sin periferia córnea) incluyendo las entradas del Banco de Germoplasma. La gran mayoría de los individuos presentan un coeficiente de pertenencia superior al 95%, mientras que sólo un porcentaje muy bajo de individuos están constituidos por genotipos “mezcla”, es decir, que exhiben aportes de uno u otro acervo.



**Figura R8.** Análisis de estructura poblacional de los individuos del NEA. Cada individuo está representado por una línea vertical coloreada; los colores indican la contribución de cada una de las poblaciones inferidas ( $K$ ) en la constitución de los genomas individuales. Las líneas negras delimitan las entradas y/o poblaciones de origen.

## R4. Razas del NEA y su relación con las razas del NOA y otras razas del Continente Americano

### R4.1. Variabilidad genética de las razas del NEA y NOA

Los índices de variabilidad genética obtenidos a partir del análisis conjunto de las razas de Misiones, del Banco Germoplasma y del NOA (siendo estos últimos datos tomados de Lia, 2004 y Lia *et al.*, 2009), calculados en base a los 10 *loci* microsatélites en común entre los tres conjuntos de datos, se muestran en la **tabla R10**. El promedio del número de alelos por *locus* fue superior para la región del

NOA, aunque no presentó diferencias significativas con las razas harinosas y córneo-harinosas de Misiones ni con las entradas del Banco de Germoplasma. El menor valor de A fue para las razas del tipo reventador de Misiones, siendo estas diferencias significativas con respecto al valor obtenido para los diferentes conjuntos de datos. También se detectaron diferencias significativas para los índices  $H_e$  y  $R_s$  en los diferentes conjuntos de datos. En cambio, para el índice  $H_o$ , no se observaron diferencias significativas entre los dos grupos de razas de Misiones, sin embargo sí se detectaron diferencias significativas entre estas últimas y las razas del Banco de Germoplasma; mientras que la  $H_o$  entre las razas harinosas y córneo-harinosas y las del NOA no presentaron diferencias significativas.

**Tabla R10.** Diversidad genética promedio en poblaciones de Misiones, entradas del Banco de Germoplasma y poblaciones del NOA.

**A:** número de alelos por *locus* por población;  **$H_o$ :** heterocigosis observada;  **$H_e$ :** heterocigosis esperada;  **$R_s$ :** riqueza alélica (calculada en base a 107 individuos). a,b,c: grupos de datos designados con la misma letra no presentaron diferencias significativas en el *test* de Wilcoxon.

	<b>N</b>	<b>A</b>	<b><math>H_e</math></b>	<b><math>H_o</math></b>	<b><math>R_s</math></b>
<b>Poblaciones de harinosos y córneo-harinosos de Misiones</b>	352	11,8 <sup>a</sup>	0,669 <sup>a</sup>	0,395 <sup>a,b</sup>	9,87 <sup>a</sup>
<b>Poblaciones de reventadores de Misiones</b>	113	5,2 <sup>b</sup>	0,410 <sup>b</sup>	0,275 <sup>a</sup>	5,02 <sup>b</sup>
<b>Entradas del Banco de Germoplasma</b>	107	11,8 <sup>a</sup>	0,713 <sup>a</sup>	0,569 <sup>c</sup>	11,67 <sup>a</sup>
<b>Poblaciones del NOA</b>	137	13,1 <sup>a</sup>	0,736 <sup>a</sup>	0,542 <sup>b,c</sup>	12,38 <sup>a</sup>

#### R4.2. Análisis de la Varianza Molecular

El AMOVA se llevó a cabo para evaluar el efecto del sitio de colección en la distribución de la variación genética poblacional. Las entradas del Banco de Germoplasma no fueron analizadas debido a que, como se mencionó anteriormente, los individuos analizados no constituyen muestras poblacionales. Por lo tanto, para este análisis se consideró como el nivel jerárquico más alto a la región de procedencia de las poblaciones, es decir, a la Provincia de Misiones (25 poblaciones), como representante del NEA, y a las Provincias de Jujuy, Salta y Catamarca como representantes del NOA (8 poblaciones). El análisis reveló que el

62% de la variación genética reside dentro de las poblaciones, el 24% entre las poblaciones de cada región, mientras que el 14% de la variación radica entre las regiones (**tabla R11**).

**Tabla R11.** Análisis de la varianza molecular entre poblaciones de Misiones y del NOA.

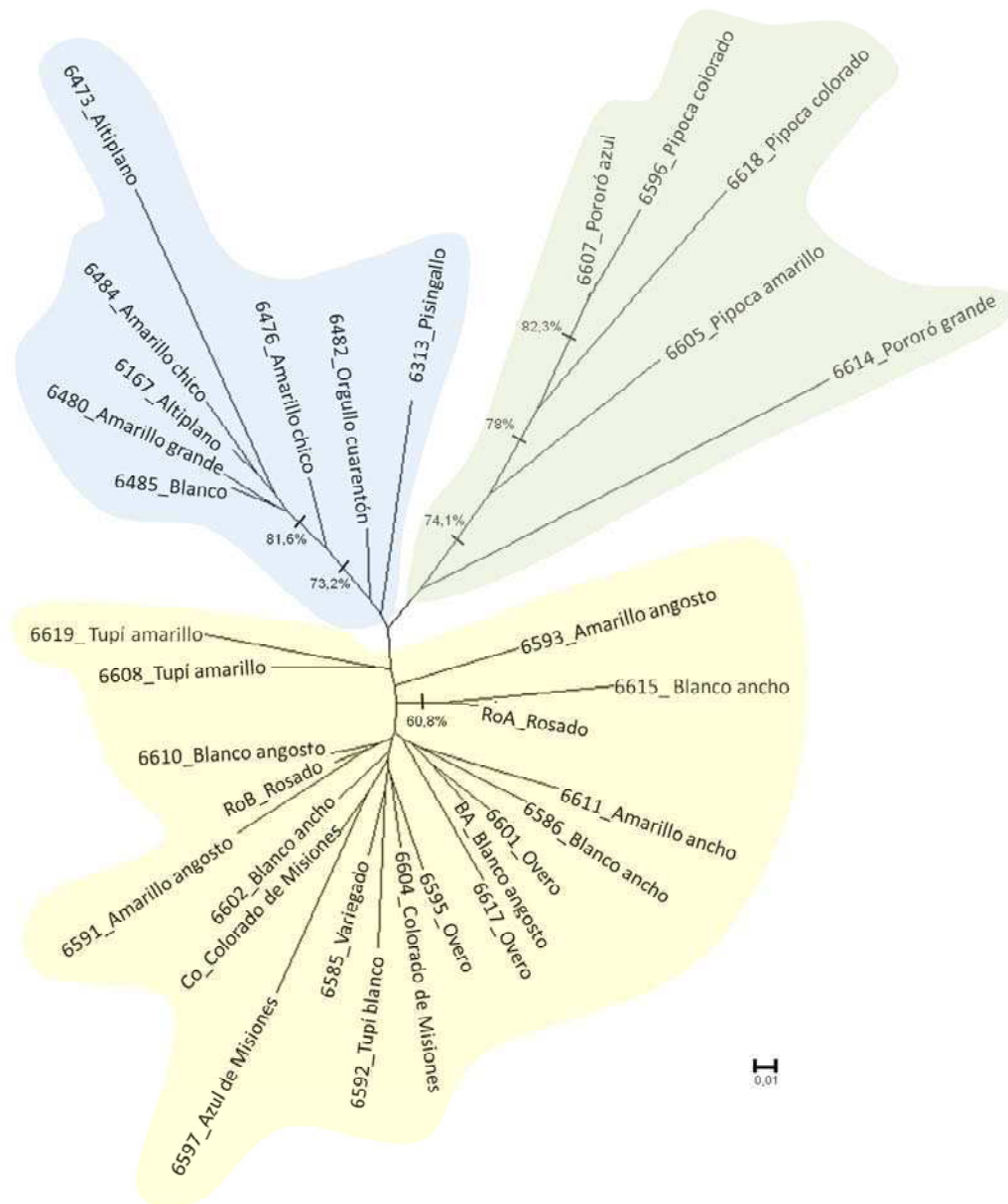
\*comparaciones significativas ( $p < 0,001$ ). g.l.: grados de libertad.

Fuente de variación	g.l.	% de la variación total	$\phi$
Entre regiones	1	14%	0,135*
Entre poblaciones dentro de regiones	31	24%	0,281*
Dentro de poblaciones	569	62%	0,379*

### R4.3. Análisis de agrupamiento poblacional

El análisis de agrupamiento se realizó utilizando conjuntamente las poblaciones de Misiones y las del NOA (33 poblaciones en total). Las entradas del Banco de Germoplasma no se utilizaron ya que no representan poblaciones.

En el retículo de N-J resultante de este análisis, basado en la distancia genética de Reynolds *et al.* (1983), se pueden delimitar tres grupos (**figura R9**). Uno de éstos (en verde en la figura), está conformado por las razas del tipo reventador de Misiones, que excluyendo la raza Pororó grande (6614), exhibe un apoyo de nodo considerable (74%). El segundo grupo delimitado (en amarillo en la figura), está constituido por las razas de Misiones con granos harinosos (con y sin endosperma córneo), aunque el apoyo del nodo es bajo ( $< 50\%$ ). Por último, el tercer grupo está formado por las poblaciones del NOA (en celeste en la figura), que exceptuando a Pisingallo (6313) y a Orgullo cuarentón (6482), recibieron un apoyo de nodo de consideración (73%).



**Figura R9.** Retículo de Neighbor-Joining obtenido en base a la distancia genética de Reynolds *et al.* (1983). Los números en las ramas indican los valores de soporte de los grupos (*bootstrapping* con 1000 pseudoréplicas). El sombreado amarillo contiene a las razas harinosas y córneo-harinosas del NEA; el sombreado verde a las razas reventadoras del NEA y el sombreado celeste a las razas del NOA.



#### R4.4. Análisis de genotipos multilocus individuales: razas del NEA, NOA y otras razas del Continente Americano

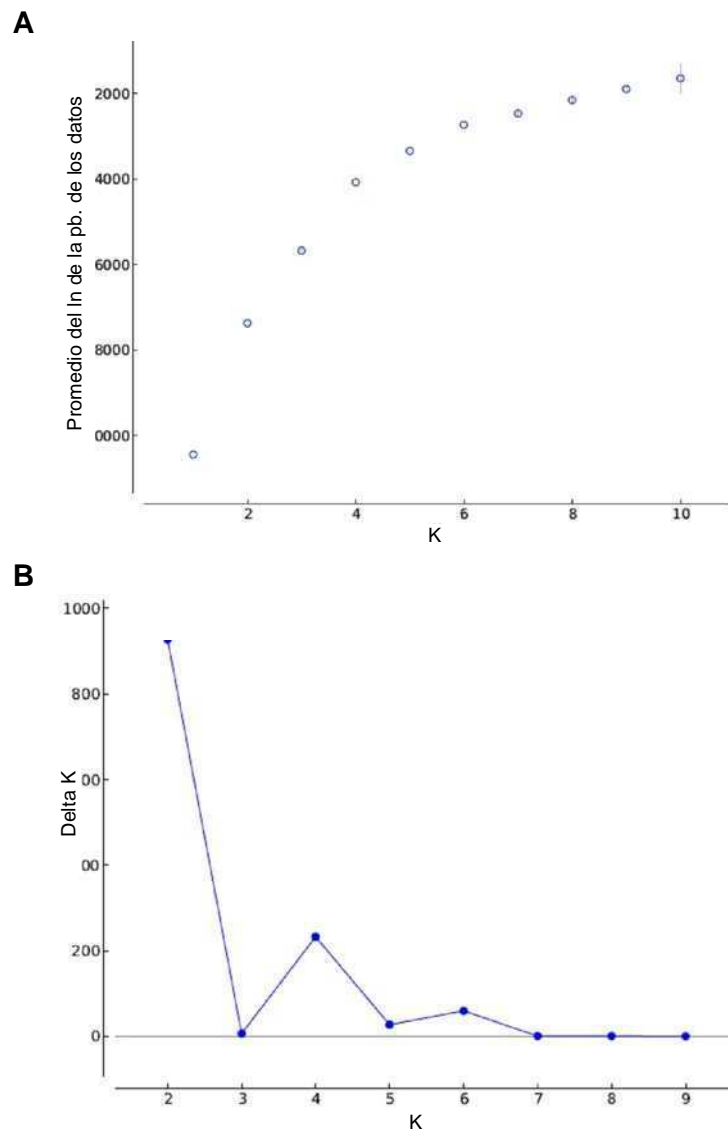
Para determinar el patrón de estructuración de las razas del NEA en relación con las razas del NOA y con otras razas del Continente Americano (datos de Vigouroux *et al.*, 2008) se procedió a la integración de los tres conjuntos de datos. En el trabajo realizado por Vigouroux *et al.* (2008) con 96 *loci* SSR y diversas razas nativas del Continente Americano se lograron delimitar los siguientes cuatro grupos: **1)** razas nativas de las tierras altas de México; **2)** razas nativas del norte de EE.UU.; **3)** razas nativas andinas; y **4)** razas nativas de las tierras bajas tropicales.

Considerando únicamente los 10 *loci* comparables entre los conjuntos de datos y con el fin de verificar la consistencia de los grupos definidos en el trabajo de Vigouroux *et al.* (2008) frente a la reducción del número de marcadores moleculares, se realizó un análisis preliminar de las razas descritas por dichos autores. Este análisis diferenció los mismos 4 grupos reportados en el mencionado trabajo empleando la totalidad de los *loci* microsatélites, validando de esta manera el uso de los diez *loci* microsatélites seleccionados para la comparación planteada. Asimismo, para todo el conjunto de datos, la PI es igual a  $4,7 \times 10^{-14}$  y la Plsibs es de  $4,7 \times 10^{-5}$ , valores que avalan también la utilización de este conjunto de diez *loci* SSR.

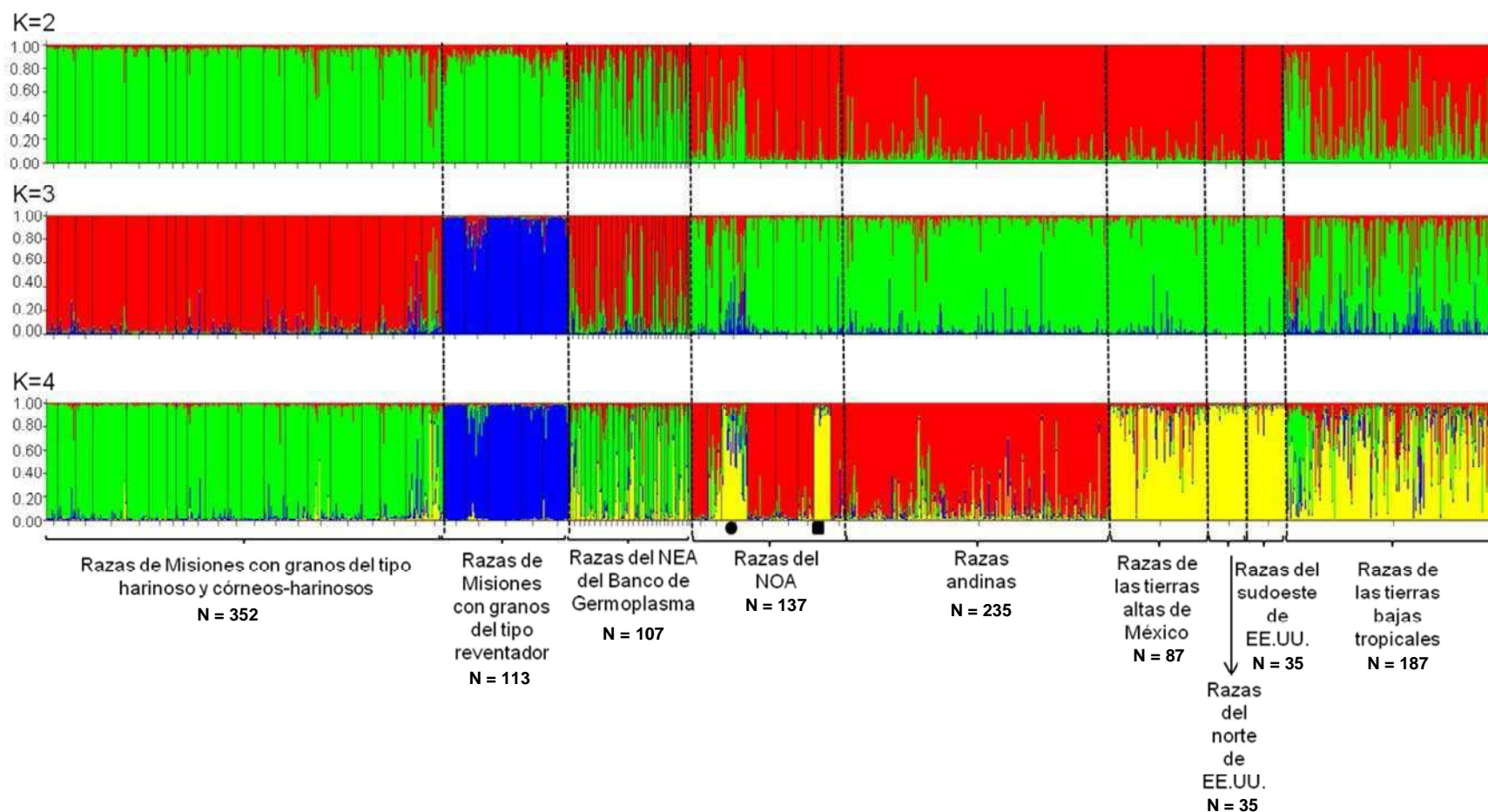
El patrón de estructuración de las razas nativas del NEA, NOA y otras razas del Continente Americano se evaluó en un rango de  $K = 1-10$ . Sin embargo, el número de acervos génicos no pudo establecerse de forma inequívoca mediante el criterio de elección del valor óptimo del  $\ln(D/K)$  (**figura R9A**). No obstante, el criterio de Evanno *et al.* (2005) permitió identificar a  $K=2$  como el valor óptimo (**figura R9B**). Los dos grupos quedan principalmente integrados por las siguientes entidades: **1)** razas de Misiones y razas del Banco de Germoplasma (grupo verde en la figura), y **2)** razas del NOA y otras razas del Continente Americano (grupo rojo en la figura). Cabe señalar que el 20% de los individuos correspondientes al grupo de razas nativas de las tierras bajas tropicales establecido por Vigouroux *et al.* (2008), se asocia al grupo de las razas representantes del NEA. De este 20%, el 43% son originarios de Brasil, el 16% de Venezuela y las restantes se distribuyen entre Colombia, Cuba, Haití, Guatemala y Venezuela. Se trata de las razas Dente Branco

Riograndense, Dente Riograndense Rugoso, Semi-dente Paulista, Cateto, Gravo Paulista, Gravo Riograndense, Dente Branco Paulista, Cristal, Costeno, Pira, Puya grande, Amarillo Salvadoreño, Cubano Dentado, Cuba, Chandelle, Early Caribbean, Negrito Común, Cuba Yellow Flint, Huevito, Avatí Pichingá, Maíz Dulce, Nal Tel y Tusón. Además, se observa que para la población 6482 del NOA (raza incipiente Orgullo cuarentón) el 43% de los individuos es asignado al grupo de razas de Misiones y del Banco de Germoplasma (grupo verde en la figura), mientras que el 52% es asignado al grupo de razas del NOA y otras razas del Continente Americano (grupo rojo en la figura).

Adicionalmente, el procedimiento de determinación del valor óptimo de K según Evanno *et al.* (op.cit.) detectó una segunda señal de estructura en  $K=4$  (**figura R9B**). La representación gráfica de las particiones obtenidas para los valores de  $K = 3$  y  $4$  se presentan en la **figura R10**.



**Figura R9.** Estimación del número de acervos génicos o poblaciones ideales para los individuos del NEA, NOA y otras razas del Continente Americano. **A.**  $\ln(D/K)$  en función de  $K$  (Pritchard *et al.*, 2000). Cada punto es el promedio de las 10 repeticiones; las líneas de cada punto son el desvío estándar. **B.** Tasa de cambio en la probabilidad del logaritmo de los datos entre los sucesivos valores de  $K$  ( $\Delta K$ ) (Evanno *et al.*, 2005).

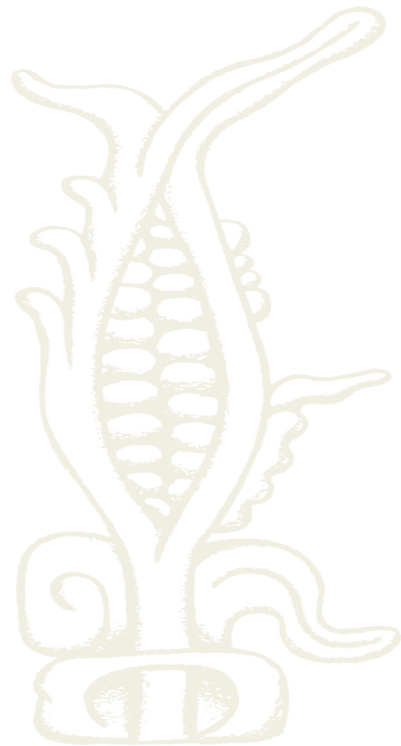


**Figura R10.** Análisis de estructura poblacional de los individuos del NEA, NOA y otras razas del Continente Americano. Cada individuo está representado por una línea vertical coloreada; los colores indican la contribución de cada una de las poblaciones inferidas (K) en la constitución de los genomas individuales. Las líneas negras delimitan las entradas y/o poblaciones de origen. Círculo negro: población 6482 (Orgullo cuarentón); cuadrado negro: población 6313 (Pisingallo).

## **R5. Estudios cromosómicos**

La ocurrencia de cromosomas supernumerarios, o cromosomas B, fue evaluada exclusivamente en las razas de Misiones. En el análisis de preparados cromosómicos de un total de 210 individuos (5-12 células por individuo), el número de cromosomas contabilizados fue siempre de 20, verificándose el dato ya conocido de  $2n=20$  para el maíz. Sin embargo, no se detectaron cromosomas supernumerarios, así como tampoco se observaron alteraciones estructurales en los extendidos cromosómicos realizados con los materiales de Misiones.

# DISCUSIÓN



## D1. Diversidad genética

El maíz, ocupa el tercer lugar entre los cultivos destinados al consumo alimentario a nivel mundial. Es una de las materias primas más importantes del mundo actual ya que es el sustento de la producción animal y un insumo clave para la industria alimenticia. Con el surgimiento de los biocombustibles se ha transformado además, en el insumo principal para la producción de etanol y biogás, y es también esencial para el desarrollo de los nuevos materiales biodegradables como los bioplásticos (Fuente: Asociación Maíz y Sorgo Argentino-MAIZAR, 2010). El mercado mundial de maíz viene cambiando lenta, pero sustancialmente, en los últimos años. En la actualidad, es el cultivo de mayor área sembrada y cosechada del mundo. La Argentina se coloca en el segundo lugar como exportador mundial, sólo precedida por los EE.UU. Esto hace que, el cultivo del maíz sea una de las actividades económicas más rentables para nuestro país.

La mayoría de los híbridos y las variedades mejoradas utilizadas actualmente para la producción comercial están basadas en un reducido número de materiales de elite (Taller & Bernardo, 2004; Ortiz *et al.*, 2010), por lo que la base genética de estos maíces es sumamente acotada. Como consecuencia de esto, las posibilidades de selección a largo plazo en cuanto a productividad, calidad (por ejemplo de harinas, fibras, almidón, aceites y proteínas, entre otros) y capacidad para tolerar situaciones de estrés biótico y abiótico (como resistencia a hongos, virus, bacterias, estrés ambiental, etc.) quedan limitadas.

Las culturas precolombinas fueron responsables de la domesticación y diversificación original del maíz, llegando a generar alrededor de 350 razas nativas. En el norte de nuestro país existen comunidades aborígenes que aún conservan costumbres ancestrales y que cultivan una gran variedad de razas de maíz para su alimentación. Si bien algunas de las razas de la Argentina han sido incluidas en estudios citogenéticos y moleculares de gran escala (McClintock *et al.*, 1981; Sánchez G. *et al.*, 2000; Matsuoka *et al.*, 2002b; Vigouroux *et al.*, 2008), el número de individuos analizados por localidad ha sido muy bajo. Hasta la concreción del presente trabajo, los estudios a nivel regional o poblacional para la región del NEA estuvieron restringidos a cuatro razas de maíces reventadores de Misiones (Bracco, 2006; Bracco *et al.*, 2008). Dichos estudios fueron precedidos por los análisis microevolutivos de Lia (2004) para ocho razas de la región del NOA.

Como ya se ha mencionado, en la presente Tesis se evalúa la diversidad genética y la estructura de las poblaciones de razas nativas de maíz del noreste argentino, una de las áreas de distribución y diversificación del maíz menos explorada. A pesar de existir desde tiempos precolombinos, el germoplasma del NEA fue reconocido como reserva de variabilidad genética sólo recientemente (Bracco, 2006; Bracco *et al.*, 2008; 2012). Allí, las razas nativas de maíz se cultivan bajo la influencia de la selección humana, del medio ambiente, del flujo genético y de la deriva genética, los cuales interactúan determinando diferentes patrones de diversidad genética.

En conjunto, los materiales del NEA estudiados poseen altos niveles de variabilidad microsatélite. El promedio de alelos por *locus* obtenido para las poblaciones de Misiones (12,93) y para las entradas del Banco de Germoplasma (11,67) está dentro del rango informado para razas nativas de México (7,84–14,9; Reif *et al.*, 2006; Vigouroux *et al.*, 2008) y para los grupos andinos y del norte de EE.UU. delimitados por Vigouroux *et al.* (2008) (12,4 y 10,6, respectivamente). Por otra parte, los valores obtenidos para el NEA son marcadamente superiores a los calculados por Matsuoka *et al.* (2002b) para razas nativas de México y Venezuela (5,6) y para un conjunto de 94 líneas de elite de EE.UU. (5,2; Senior *et al.*, 1998). También superan ampliamente a los valores hallados para líneas de maíz de regiones tropicales y subtropicales del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) (7,2–7,4; Xia *et al.*, 2004, 2005). Vale aclarar que los valores comparados están calculados a partir del análisis de marcadores microsatélites de las series *phi*, *nc* y *umc* que, de acuerdo a Lia (2004), presentan menor variabilidad que los de la serie *bnlg* empleados en esta Tesis.

Al considerar las poblaciones de Misiones de acuerdo a la consistencia del grano, los niveles de diversidad genética detectados en las poblaciones de maíces reventadores (córneos) fueron la mitad de los obtenidos para las poblaciones de maíces harinosos y córneo-harinosos. Las discrepancias que se observan podrían ser consecuencia de una tasa diferencial de erosión genética, con cuellos de botella más severos o regímenes selectivos más estrictos para las poblaciones de maíces reventadores debido, tal vez, a las preferencias de los agricultores y/o a condiciones ambientales adversas. Alternativamente, los maíces reventadores podrían haber tenido niveles ancestrales de variabilidad limitados en comparación con los de las



poblaciones de maíces harinosos y córneo-harinosos. No sería ésta la primera vez que se reporta una menor diversidad en razas del tipo reventador. El trabajo realizado por Liu *et al.* (2003) sobre la caracterización genética de 260 líneas endocriadas a partir de 96 *loci* microsatélites, sitúa a las líneas de maíz del tipo reventador como las de menor diversidad genética.

Por otra parte, se ha detectado que si bien la diversidad contenida en las poblaciones de Misiones es del 74% de la encontrada en las entradas del Banco de Germoplasma, los valores de  $R_s$ , que permiten independizarse de las diferencias en el tamaño muestral, sugieren que no habría diferencias significativas en cuanto a la riqueza de alelos. Aún así, esa pequeña diferencia puede atribuirse al tipo de muestreo ya que en el primer caso se trata de poblaciones naturales mientras que, en el segundo son muestras reducidas de individuos de cada raza. Asimismo, de estos resultados se desprende que los niveles de variabilidad contenidos en las poblaciones de Misiones, coleccionadas en el año 2005, no se han visto disminuidos significativamente respecto a las muestras tomadas hace poco más de tres décadas y que conforman la colección del Banco de Germoplasma de la EEA INTA Pergamino. Cabe destacar además, que los niveles de variabilidad detectados en las razas de Misiones son altos si se tiene en cuenta que se trata de un área de colección mucho más restringida que la abarcada por la colección del Banco de Germoplasma.

La comparación de los índices de diversidad derivados de los dos centros más importantes de diversidad de nuestro país, el NEA y el NOA, sugiere que ambas regiones exhiben niveles de variabilidad similares. La mayor diversidad está presente en las poblaciones del NOA, seguidas en orden decreciente por las entradas del Banco de Germoplasma, las razas de harinosos y córneo-harinosos de Misiones y, en último lugar, por las razas de reventadores de Misiones. El mismo ordenamiento se deduce al considerar la riqueza de alelos. Estos ordenamientos provienen de la comparación de las estimas de diversidad calculadas únicamente en base a los 10 *loci* compartidos entre el presente trabajo y las poblaciones de razas nativas del NOA (Lia, 2004; Lia *et al.*, 2009). Sin embargo, sorprende que los niveles de variabilidad genética obtenidos para el NEA y el NOA, no resulten tan diferentes teniendo en cuenta la gran variación morfológica de las razas del NOA, las cuales representan el 80% de las razas argentinas descriptas, y sólo un porcentaje menor

corresponde a la región del NEA (Cámara Hernández & Miente Alzogaray, 1997; 2003; Melchiorre *et al.*, 2006, Cámara Hernández *et al.*, 2012).

A nivel de poblaciones individuales, los valores de  $A$  y  $H_e$  obtenidos para Misiones son similares a los valores obtenidos para los diferentes complejos raciales de germoplasma de maíz tropical, subtropical y templado del CIMMYT ( $A$ : 3,76;  $H_e$ : 0,52; Reif *et al.*, 2004) y de entradas de razas de maíz mexicanas ( $A$ : 3,44,  $H_e$ : 0,48; Reif *et al.*, 2006). La diversidad genética promedio de las poblaciones de Misiones representa el 75% de la diversidad de poblaciones de razas nativas de maíz coleccionadas directamente en los campos de agricultores tradicionales de los Valles Centrales de Oaxaca, México ( $H_e$ : 0,650-0,720; Pressoir & Berthaud, 2004). Este hecho concuerda con lo esperado para poblaciones provenientes de las áreas centrales de la distribución. También, el valor promedio de  $H_e$  hallado en el presente estudio equivale al 74% del valor obtenido para las razas nativas de las regiones andina ( $H_e$ : 0,706) y norte de EE.UU. ( $H_e$ : 0,718) y al 65% del calculado para las regiones altas de México y bajas tropicales, delimitadas por Vigouroux *et al.* (2008). Sin embargo, hay que tener en cuenta que las estimaciones regionales de Vigouroux *et al.* (2008) se basan en un espectro geográfico mucho más amplio, y con una estrategia de muestreo focalizada en la detección de la máxima variabilidad genética. En este contexto, los niveles de diversidad genética obtenidos aquí para las razas nativas de Misiones resultan muy altos, sobre todo considerando el área geográfica estudiada y el número comparativamente pequeño de razas analizadas.

La caracterización microsatélite permitió detectar para las poblaciones de Misiones un total de 21 alelos nuevos, respecto a los descritos para las poblaciones del NOA (Lia *et al.*, 2009; Lia, 2004). De éstos, 17 alelos aparecen descritos en la base de datos que reúne la información genética de razas nativas de todo el continente (Panzea, [www.panzea.org](http://www.panzea.org)), estando tres de ellos representados en América del Norte y los restantes 14 distribuidos uniformemente sobre todo el continente. Por otra parte, en las poblaciones de Misiones se detectaron 10 alelos que no están presentes en las líneas endocriadas estudiadas por Liu *et al.* (2003). De la totalidad de alelos enumerados, uno nunca antes descrito para Sudamérica, fue hallado sólo en las poblaciones de Misiones, y otro alelo resulta completamente novedoso ya que no ha sido descrito en maíz

previamente. Sin embargo, estos alelos podrían ser atribuidos a errores de asignación dado que aparecen en una frecuencia muy baja (2/908 y 3/910, respectivamente).

La comparación de los alelos detectados en las entradas del Banco de Germoplasma y en las poblaciones del NOA, permitió identificar 6 alelos sólo presentes en las entradas del Banco, mientras que la comparación con los datos alélicos de las líneas endocriadas posibilitó la detección de 3 alelos propios de las entradas del Banco. Considerando comparativamente el cúmulo de información representativo de la región del NEA (es decir, poblaciones de Misiones y entradas del Banco), y los datos de las líneas endocriadas de maíz (Liu *et al.*, 2003) para los 15 *loci* en común, se deduce que en los materiales del NEA quedan 13 alelos (4,5% del total) aún sin representar en las líneas.

En síntesis, los resultados presentados en esta Tesis ponen de manifiesto la importancia de las razas nativas del NEA como fuente de diversidad alélica y su empleo en la generación de nuevos materiales para ser comercializados en la Argentina. Nuestras razas nativas contendrían información genética, no representada en las líneas puras y poblaciones mejoradas, con potencialidad agronómica novedosa. Asimismo, se destaca la necesidad de conservación (*in-situ* y *ex-situ*) de este recurso genético esencial para las comunidades aborígenes y para el resto de la humanidad.

## **D2. Distribución de la variabilidad genética**

### **D2.1. Estructura genética intrapoblacional**

Las poblaciones de maíz están sujetas a procesos de deriva, migración y a la selección, tanto natural como artificial. Con lo cual, para tener una idea de cómo evoluciona este sistema, es importante estudiar en detalle la dinámica poblacional directamente en los campos de los cultivadores y el impacto de sus prácticas en la determinación de la estructura y diversidad poblacional. En la actualidad, las comunidades aborígenes Guaraníes de Misiones, cultivan las razas de maíz de una manera tradicional, preservando semillas (granos) de un año al siguiente. Además,

en sus cultivos hay muy escasa, o nula, presencia de las variedades comerciales, aunque últimamente se detecta una tendencia a incluir variedades comerciales de gran rendimiento (Cámara Hernández com. pers.). Los cultivadores plantan las semillas de las diversas razas en pequeñas parcelas, permitiendo el libre intercambio de polen entre las diferentes razas. Más aún, los agricultores usualmente intercambian semillas con otros agricultores, y es común que mezclen las semillas. Este manejo hace que los cultivadores tengan un papel de gran relevancia en la evolución de las razas de maíz y en su diversidad. Al mismo tiempo, la biología del maíz juega un rol muy importante en la estructuración de las poblaciones.

El maíz es un cultivo anual anemófilo (polinizado por el viento), y considerado de fecundación predominantemente cruzada, con lo cual podría esperarse apareamiento al azar de las gametas en la mayoría de las plantas de una población. Sin embargo, los resultados obtenidos indican que un alto porcentaje de las poblaciones de Misiones (95%) exhiben desviaciones a las expectativas teóricas de panmixia. Esto no llama la atención ya que se ha informado la falta de ajuste en diversos estudios poblacionales de maíces de diferentes orígenes (Kahler *et al.*, 1986; Dubreuil & Charcosset, 1998; Pressoir & Berthaud, 2004; Reif *et al.*, 2004; Lia, 2004; Lia *et al.*, 2009). El exceso de homocigotas en especies alógamas puede ser atribuido a diferentes causas, como por ejemplo a errores experimentales, la ocurrencia de alelos nulos, al apareamiento preferencial, de selección, de subestructuración poblacional, ocurrencia de endogamia debido al manejo de las semillas por parte de los agricultores y cuellos de botella severos.

## **D2.2.Diferenciación genética entre poblaciones**

Antes de comenzar con la discusión de los resultados de estructura poblacional, es necesario recordar que contrariamente a lo que ocurre con el polen, diseminado por el viento, la dispersión de los granos de maíz se produce fundamentalmente a través del intercambio entre los cultivadores, con lo cual puede alcanzar distancias prácticamente ilimitadas.

Como ya se ha detallado anteriormente, el grado de diferenciación entre las poblaciones de Misiones se evaluó a través del índice de fijación  $F_{ST}$  de Wright (1965). Comparativamente a lo hallado para las poblaciones de razas nativas del NOA ( $F_{ST}$ : 0,146; Lia, 2004; Lia *et al.*, 2009), el nivel de diferenciación entre las poblaciones aquí estudiadas resultó ser de aproximadamente el doble. No obstante, se observaron diferencias en la distribución de la variabilidad entre los grupos de razas harinosas y córneo-harinosas vs. reventadoras (córneas). Tal es así que, el  $F_{ST}$  promedio entre razas de reventadores de Misiones ( $F_{ST}$ : 0,397) es el doble que el obtenido para las razas harinosas y córneo-harinosas ( $F_{ST}$ : 0,16). Además, este último valor es similar al de las razas del NOA en su conjunto. Los resultados de diferenciación entre los dos grupos de razas de Misiones, enfatizan la particularidad de las razas del tipo reventador. Estas observaciones, junto a los menores niveles de variabilidad, nos permiten sugerir que la deriva genética estaría jugando un papel fundamental en la conformación de la estructura genética de las poblaciones de maíces con granos del tipo reventador. En este sentido, en el trabajo realizado por Liu *et al.* (2003), los autores hallaron gran divergencia en los maíces reventadores respecto de las otras líneas estudiadas.

Pressoir y Berthaud (2004) evaluaron la distribución de la variabilidad en poblaciones locales de varias razas nativas de maíz blanco. La estima de diferenciación obtenida por esos autores a partir del análisis de 11 *loci* SSR ( $F_{ST}$ : 0,011) resultó muy inferior a la del presente trabajo dado que derivan de la comparación entre poblaciones de parcelas de un mismo poblado, donde el intercambio de semillas es considerable. Frente a la misma situación (poblaciones de una misma aldea), los valores obtenidos en esta Tesis indican que las poblaciones de Misiones están comparativamente más diferenciadas que aquellas.

Como se menciona más arriba, la dinámica de las poblaciones de maíz está íntimamente ligada a las actividades humanas. Las prácticas de manejo de los agricultores tienen una gran influencia en la distribución de la diversidad genética y el flujo génico. Las costumbres de las comunidades Guaraníes de sembrar las diferentes razas nativas en campos pequeños y muy cercanos, debería tener como consecuencia un flujo génico intenso entre las razas. Sin embargo, los altos niveles de diferenciación encontrados entre las poblaciones de maíz estudiadas, sugieren la

existencia de barreras, tanto naturales como artificiales, que imposibilitan el flujo génico. En particular, esto es más evidente entre las razas de maíces reventadores que exhiben una mayor estructuración. Todas las observaciones anteriores, permiten proponer dos explicaciones no mutuamente excluyentes para la **persistencia de la diferenciación** de las razas autóctonas en general. Primero, la existencia de barreras biológicas como la ocurrencia de diferencias en el tiempo de floración, o cualquier tipo de incompatibilidad aún no identificada, que lleven a la reducción del flujo génico. En segundo lugar, la selección ejercida por el agricultor sobre determinadas combinaciones de rasgos morfológicos, puede estar preservando la identidad de las razas nativas cultivadas en Misiones.

En cuanto a la distribución de la diversidad genética en las diferentes poblaciones de maíz de Misiones, se observa que el sitio de colección (es decir, la aldea de origen) tiene una escasa influencia en la distribución de la diversidad. Esto puede deberse al manejo de los cultivadores que cada año suelen intercambiar semillas con cultivadores de otras aldeas luego de la cosecha. Además, se observa que la variación entre razas es similar a la variación dentro de las razas remarcando que no existe una relación directa entre la similitud genética y la morfológica. Una conclusión similar deriva de considerar los dos grupos de razas de Misiones, es decir reventadores vs. harinosos y córneo-harinosos, que exhiben niveles equivalentes de variación intra e inter-grupo, reflejando la gran heterogeneidad existente dentro de ambos.

El análisis de la estructura poblacional permitió detectar la contribución de dos acervos génicos en las poblaciones de Misiones, uno conformado por razas con granos del tipo reventador y otro constituido por razas con granos del tipo harinoso y córneo-harinoso. Esto, junto con los niveles significativos de diferenciación detectados entre ambos grupos de razas, corrobora la existencia de barreras al flujo génico de origen biológico y/o antrópico, en particular para las razas de reventadores. La diferenciación persistente entre los grupos de razas de Misiones puede explicarse con las mismas argumentaciones, ya explicitadas anteriormente para las razas en general y/o la ocurrencia de deriva genética.

En concordancia con lo observado en el presente estudio, el análisis multivariado de los caracteres morfológicos, fenológicos y reproductivos realizado

por Melchiorre *et al.* (2006) para 14 de las 15 razas aquí estudiadas, permitió distinguir dos grupos. Los caracteres discriminantes más importantes obtenidos allí resultaron ser la duración del ciclo vegetativo y las características morfológicas asociadas a ella (por ejemplo: la altura de la planta, número de hojas, etc.). Si bien no lo mencionan, dichos grupos reflejan además la distinción entre razas según las características de sus granos.

### **D3. Las razas de maíz de Misiones y su relación con las razas del Banco de Germoplasma INTA-Pergamino**

El análisis conjunto de las poblaciones de Misiones y las entradas del Banco de Germoplasma permitió identificar dos acervos génicos. En éstos, las razas del tipo reventador se mantuvieron asociadas formando un grupo discreto, mientras que las entradas del Banco de Germoplasma, todas del tipo harinoso y córneo-harinoso, se unieron a las razas harinosas y córneo-harinosas de Misiones. Esta diferenciación destaca, una vez más, el carácter distintivo de las razas de maíces reventadores.

En contraposición a la homogeneidad detectada para las entradas del Banco de Germoplasma en el análisis conjunto con las poblaciones de Misiones (**figura R8**), tres acervos génicos fueron identificados al analizarse las mismas en forma independiente (**figura R6**). La detección de estructura ficticia es un fenómeno frecuentemente descrito para el método Bayesiano utilizado en este trabajo, especialmente cuando los datos analizados no se ajustan completamente a los supuestos del modelo (Chen *et al.*, 2007). Dadas las características del muestreo utilizado para las entradas del Banco de Germoplasma, es probable que los tres acervos génicos identificados constituyan grupos espurios sin significado biológico.

#### **D4. Las razas del NEA y su relación con las razas del NOA y otras razas del Continente Americano**

Las relaciones entre las poblaciones de razas provenientes de Misiones y del NOA, visualizadas en el retículo de N-J, ponen en evidencia la existencia de tres acervos génicos en el norte de la Argentina: las razas del NOA, las razas de maíces del tipo reventador del NEA y las razas del tipo harinoso y córneo-harinoso del NEA.

Por otra parte, el análisis combinado de las poblaciones del NEA, del NOA y otras razas del Continente Americano, mediante el método de agrupamiento Bayesiano, permitió identificar un nivel de estructura considerable que proporciona una explicación posible de la composición de los acervos génicos en el Continente Americano. Por un lado, las razas del tipo reventador de Misiones forman un grupo claramente delimitado, con la ocurrencia prácticamente nula de genotipos mezcla. Por otro lado, las razas harinosas y córneo-harinosas de Misiones se agrupan con las entradas del Banco de Germoplasma. A éste último acervo se le asocian algunas entradas de ciertas razas del grupo Tropical de Tierras Bajas (*Tropical Lowland*) establecido por Vigouroux *et al.* (2008). En consecuencia, la constitución genética de ese grupo sería altamente heterogénea. Dos escenarios posibles permitirían explicar la asociación encontrada. El primero está vinculado a las vías de introducción del maíz en América del Sur. La asociación entre las razas del NEA y las del grupo *Tropical Lowland* sería consecuencia de las migraciones precolombinas de los habitantes originarios, durante el proceso de diversificación del maíz. El segundo escenario tiene que ver con las migraciones posteriores al descubrimiento de América y da cuenta de una introducción más reciente del germoplasma en la zona. Se ha propuesto que numerosas razas nativas del sudeste de EE.UU. habrían sido llevadas a Brasil, luego de la Guerra Civil norteamericana por la migración de los agricultores (Brieger *et al.*, 1958; Paterniani & Goodman, 1978; Sánchez G. *et al.*, 2007). Vigouroux *et al.* (2008) detectaron, por ejemplo, que algunas entradas de la raza Dente Branco Riograndense, entre otras de la Argentina y Brasil, está estrechamente relacionada con el grupo de razas originalmente llevadas desde EE.UU. hacia las tierras bajas del centro de América del Sur. Del mismo modo, la presencia de razas derivadas de EE.UU. en Sudamérica fue corroborada recientemente por van Herwaarden *et al.* (2011) mediante el análisis de marcadores SNPs. Nuevas investigaciones son aún necesarias para establecer si



las razas del NEA aquí estudiadas corresponden a las olas de introducción precolombinas o si están relacionadas con germoplasma más moderno producto de migraciones recientes.

El tercer grupo detectado en nuestro análisis corresponde al de las razas del NOA (excluyendo a Pisingallo y Orgullo cuarentón) que se asocian a las razas andinas evaluadas por Vigouroux *et al.* (2008), y el cuarto grupo detectado es el de las razas Pisingallo y Orgullo cuarentón que se asocian claramente con las razas de América del Norte, confirmando las relaciones ya establecidas por Lia *et al.* (2009).

En relación al origen del germoplasma de reventadores en América del Sur, McClintock *et al.* (1981) apoyan la hipótesis de que la raza Pisingallo fue introducida en una etapa temprana de su desarrollo y proponen que podría haber derivado de razas de maíz de México y Guatemala. Por el contrario, Goodman y Mck. Bird (1977) sugieren que los reventadores del sur de Sudamérica surgieron recientemente a partir de germoplasma paraguayo o, alternativamente, que habrían sido desarrollados en Kansas (EE.UU.) en los años '20 y posteriormente introducidos en América del Sur. Estas discrepancias estarían reflejando la existencia de maíces reventadores de diversos orígenes en Sudamérica. Posteriormente, Santacruz-Varela *et al.* (2004) realizaron un análisis de agrupamiento con 56 poblaciones de variedades de maíces reventadores de EE.UU. y 9 provenientes de América Latina, utilizando caracteres morfológicos, marcadores isoenzimáticos y SSR nucleares. Los resultados obtenidos por dichos autores pusieron en evidencia la existencia en Sudamérica de dos grupos de maíces reventadores. Uno de éstos, está conformado por el grupo *Yellow Pearl Popcorn* de EE.UU. y materiales de Brasil, Paraguay y la Argentina. Mientras que el otro, está formado por el subgrupo *Latin American Pointed and SW U.S. Pointed*, e incluye la raza Pisingallo del NOA, así como otras razas andinas, provenientes de Ecuador, Perú y Bolivia. Si bien, de acuerdo a su origen geográfico, los reventadores de Misiones podrían asociarse con los *Yellow Pearl Popcorn*, no se dispone de evidencia al presente, desde el punto de vista genético, que permita corroborar esta asociación, por lo cual queda pendiente determinar si los reventadores de Misiones pertenecen a ese o a otro grupo.

## D5. Rutas de dispersión del maíz

Los resultados presentados en esta Tesis son consistentes con la existencia de los dos centros de diversificación de las variedades nativas de maíces de la Argentina propuestos por Horowitz (1935). También concuerdan con las hipótesis de expansiones independientes del maíz en América del Sur propuestas por Oliveira Freitas *et al.* (2003). Una de estas rutas de entrada sería a través del del altiplano, a lo largo de los Andes, y la otra a través de las regiones bajas a lo largo de la costa este del continente. Lia *et al.* (2007b) corroboraron el origen andino de ciertas razas del NOA al detectar la presencia de alelos microsatélites específicos de las razas andinas en ejemplares arqueológicos argentinos. Por su parte, y en consonancia con las vías de introducción mencionadas, Vigouroux *et al.* (2008) hallaron que las regiones bajas de América del Sur (parte de Bolivia, parte de Argentina, Paraguay y Uruguay) habrían sido la zona de contacto entre las razas originarias de los Andes y las de la costa este de América del Sur. En lo que respecta a este punto, McClintock *et al.* (1981) y Sánchez G. *et al.* (2007) encontraron rasgos genéticos típicos de las razas andinas, en ciertas razas de las tierras bajas de América del Sur.

Con todo, los niveles de diferenciación genética entre las razas nativas del NEA y del NOA, detectados aquí sugieren que actualmente estas regiones estarían asociadas a dos acervos génicos claramente distintos, con una marcada restricción del flujo génico. Varios factores permitirían explicar esta imitación entre las regiones NEA - NOA: las diferentes tradiciones culturales asociadas al uso de razas nativas, las adaptaciones ecológicas locales específicas, y el aislamiento de las comunidades Guaraníes de la Provincia de Misiones, así como de otras comunidades cultivadoras. La ampliación de la región muestreada mediante la incorporación de las entradas provistas por el Banco de Germoplasma, fue fundamental para determinar que los niveles de diferenciación observados pueden considerarse una consecuencia de un patrón que no solo refleja lo que sucede en las aldeas Guaraníes de Misiones, sino que abarca a toda la región del NEA, corroborando la existencia de diferentes acervos génicos en el norte de la Argentina.

En conclusión, las razas caracterizadas genéticamente en el presente estudio han demostrado poseer niveles de diversidad genética considerables, con contribuciones de diferentes acervos genéticos. Los programas de conservación de recursos genéticos requieren de una adecuada delimitación y manejo de pequeñas unidades (por ejemplo, poblaciones) que maximicen la retención de la diversidad y minimicen la endogamia. En este contexto, la cuantificación de la diversidad genética dentro y entre las razas nativas del NEA, así como la evaluación del acervo génico de las razas del norte de la Argentina, constituye una plataforma informativa para concretar el diseño de estrategias de conservación. Además, los resultados obtenidos en este trabajo permiten concluir que las dos grandes regiones del norte de la Argentina, el NEA y el NOA, deben ser consideradas como unidades de manejo diferentes. Más aún, dentro de la región del NEA, los dos grupos de razas detectados (harinosos / córneo-harinosos y reventadores) deberían ser tratados a su vez, como unidades de manejo diferentes. Una vez más se quiere resaltar que los resultados presentados posicionan al acervo genético del NEA como una valiosa y promisoría fuente de alelos para los programas de fitomejoramiento.

## **D6. Cromosomas supernumerarios**

La presencia y significado del mantenimiento de los cromosomas B en poblaciones naturales ha sido objeto de estudio en numerosos grupos de organismos desde hace más de 50 años (Blackwood 1956; Jones & Rees 1982; Carlson 1986; Porter & Rayburn 1990; Carlson & Roseman 1992; Jones 1995). Las diferencias poblacionales en el número y frecuencia de cromosomas B pueden derivar de factores selectivos (tolerancia ecológica de los portadores en relación con la permisividad del ambiente), factores históricos, factores de transmisión (diferencias en la intensidad de las fuerzas de acumulación) y factores aleatorios (deriva) (Camacho *et al.*, 2000).

Existen numerosos estudios realizados en materiales de diversas razas de maíz del Continente Americano que destacan la existencia de una correlación significativa entre cromosomas B, contenido de heterocromatina y altitud del cultivo

(Bretting & Goodman 1989; Porter & Rayburn, 1990; Longley, 1938; Bianchi *et al.*, 1963; Mangelsdorf & Cameron, 1942; Rayburn, 1985; 1990) que podrían tener un significado adaptativo (Poggio *et al.*, 1998; Rosato *et al.*, 1998). En lo que respecta a las razas nativas de maíz del norte de la Argentina, la zona mayormente explorada es el NOA. Rosato (1997) y Rosato *et al.* (1998) estudiaron poblaciones correspondientes a razas nativas de maíz que crecen a diferentes altitudes. Los autores detectaron una correlación positiva entre el número de cromosomas B y la altura de cultivo, y a su vez una disminución en el contenido de heterocromatina a medida que aumenta la altitud, atribuyendo dicho comportamiento a la existencia de fuerzas selectivas tendientes a mantener un tamaño nuclear óptimo. Más recientemente, Lia *et al.* (2007a) analizaron el significado adaptativo del cline altitudinal de los cromosomas B usando marcadores SSR neutrales, con el fin de evaluar los niveles de divergencia genética de las poblaciones estudiadas por Rosato *et al.* (1998). Lia *et al.* (2007a) concluyeron que el gradiente altitudinal de cromosomas B descrito en las poblaciones del NOA no puede ser explicado por procesos demográficos e indirectamente corroboraron la acción de fuerzas selectivas.

Previamente a la concreción de este trabajo de Tesis, el estudio citogenético a nivel poblacional de materiales de la región NEA se remitía a tres poblaciones de las razas Colorado y Pichingá de la Provincia de Formosa (Rosato *et al.*, 1998). Como se mencionara en la sección Resultados, las poblaciones de razas nativas de maíz de Misiones examinadas aquí no presentaron cromosomas B. Estos hallazgos concuerdan con el estudio realizado por McClintock *et al.* (1981). El propósito principal de dicho trabajo fue determinar, por medio de la comparación de las constituciones cromosómicas de diversas razas, dónde se habría desarrollado inicialmente el maíz y además, cuándo, dónde y cómo este maíz original habría sido introducido en otras partes del Continente Americano, así como su destino luego de tal introducción. Dichos autores observaron que las similitudes y diferencias en la composición cromosómica podían revelar grados de relación entre las razas. En particular para la región este de Sudamérica, sus resultados pusieron en evidencia una ausencia casi total de cromosomas B, siendo las excepciones una colección de Cateto de Guayana, otra de Brasil, dos de Uruguay y una proveniente de la provincia de Buenos Aires. En contraposición, los autores

hallaron una alta frecuencia de cromosomas B en la región oeste de Sudamérica y en la región andina del Ecuador, con una distribución que abarca las regiones andinas de Bolivia y partes adyacentes de la Argentina y Chile. La ausencia de cromosomas supernumerarios en los materiales inspeccionados en el presente trabajo de Tesis para las 25 poblaciones de Misiones, concuerdan con lo obtenido por Rosato *et al.* (1998) para las razas Colorado y Pichingá de Formosa, para las cuales se obtuvo un porcentaje casi nulo de cromosomas B. Este constituye un resultado esperable teniendo en cuenta que la altura de cultivo en Misiones es despreciable y que por tanto, la ocurrencia de cromosomas B no tendría ningún valor adaptativo en dichas condiciones.

## **Conclusiones**

**I.** Las razas de Misiones se encuentran constituidas por acervos génicos diferentes, que concuerdan con el tipo de grano que poseen, es decir, harinosos/córneo-harinosos y reventadores. Estos deberían ser considerados como unidades de conservación diferentes.

**II.** Las razas nativas del NEA constituyen una reserva de diversidad significativa, con potencial para ampliar la base genética de los programas de fitomejoramiento.

**III.** Las razas de Misiones no parecen haber sufrido un proceso de erosión genética severo en tiempos recientes, ya que los ejemplares actuales conservan gran parte de la diversidad detectada en las colecciones del NEA de los años 1977 y 1978.

**IV.** La comparación entre las razas del NEA y del NOA apoyan la existencia de dos centros de diversidad diferentes en Sudamérica. La comparación con otras razas del Continente Americano avala la hipótesis de ocurrencia de una vía de introducción del germoplasma nativo del NEA a través del este de Sudamérica.

**V.** La ausencia de cromosomas B en las razas del NEA coincide con la constitución cromosómica esperada para el grupo de las razas de regiones bajas.

## **Perspectivas**

La realización futura de estudios filogeográficos en los materiales empleados en el presente trabajo de Tesis, utilizando secuencias con diferentes historias evolutivas, como el gen nuclear *Alcohol deshidrogenasa 2* y los marcadores microsatélites de cloroplastos, contribuirá a profundizar el conocimiento acerca del patrón biogeográfico de dispersión y diversificación del maíz en América del Sur. Además, esta caracterización ayudará a establecer las pautas tendientes a maximizar la conservación de los recursos genéticos autóctonos.

---

**Bibliografía**

---

- Anderson E (1946) Maize in Mexico: a preliminary survey. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 33:147-247.
- Anderson E & Cutler HC (1942) Races of *Zea mays*: I. their recognition and classification. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 29: 69- 88.
- Beadle GW (1980) The ancestry of corn. *Scientific American*, 242: 112-119.
- Bennett MD & Leitch IJ (1995) Nuclear DNA amounts un angiosperms. *Annals of Botany*, 76:113-176.
- Benz BF (1999) On the origin, evolution and dispersal of maize in Pacific Latin America in prehistory. M. Blake (ed.). WSU Press, Pullman. *The Evolution of Archaic and Formative Cultures*.
- Benz BF (2001) Archaeological evidence of teosinte domestication from Guilá Naquitz, Oaxaca. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 98: 2104-2106.
- Benz BF & Iltis HH (1990) Studies in archaeological maize I: the "wild" maize from San Marcos cave reexamined. *American Antiquity*, 55: 500-511.
- Bianchi A, Ghatnekar MV & Ghidoni A (1963) Knobs in Italian maize. *Chromosoma*, 14: 601-617.
- Blackwood M (1956) The inheritance of B chromosomes in *Zea mays*. *Heredity*, 10: 353-366.
- Bracco M (2006) Variabilidad microsatélite en maíces reventadores autóctonos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA.
- Bracco M, Lia VV, Gottlieb AM, Cámara Hernández J & Poggio L (2008) Genetic diversity in maize landraces from indigenous settlements of Northeastern Argentina. *Genetica*, 135: 39–49.
- Bracco M, Lia VV, Cámara Hernández J, Poggio L & Gottlieb AM (2012) Genetic diversity of maize landraces from lowland and highland agro-ecosystems of Southern South America: implications for the conservation of native resources. *Ann. Appl. Biol.*, 160: 308–321.
- Bretting PK & Goodman MM (1989) Karyotypic variation in mesoamerican races of maize and its systematic significance. *Economic Botany* 43: 107-124.
- Bretting PK, Goodman MM & Stuber CW (1990) Isozymatic variation in Guatemala races of maize. *Amer. J. Bot.*, 77: 221-225.

- Brieger FG, Gurgel JTA, Paterniani E, Blumenschein A & Alleoni MR (1958) Races of maize in Brazil and other eastern South American countries. *Natl. Acad. Sci.-Natl. Res. Council, Publ.* 593. Washington, D. C. 283 p.
- Bye R (1993) The role of humans in the diversification of plants in Mexico. In: Ramamoorthy TP, Bye R, Lot A & Fa J. *Biological Diversity of Mexico: Origins and distribution.* Oxford University Press, New York. pp. 707-735.
- Camacho JPM, Sharbel TF & Beukeboom LW (2000) B-chromosome evolution. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.*, 355: 163-178.
- Cámara Hernández J & Miente Alzogaray AM (1997) Las razas de maíz de Jujuy y Salta Argentina. 1er Taller Internacional de Recursos Fitogenéticos del Noroeste Argentino, pp. 19–23.
- Cámara Hernández J & Miente Alzogaray AM (2003) Caracterización y clasificación en razas, de maíces nativos de la Provincia de Misiones, Argentina. In *Proceedings of the IV Simposio de recursos genéticos para América Latina y el Caribe*, Mar del Plata, Argentina.
- Cámara Hernández J, Miente Alzogaray AM, Bellón R & Galmarini AJ (2012) Razas de maíz nativas de la Argentina. Ed. Fac. Agronomía, UBA, vol. 1, 174 pp.
- Carlson WR (1986) The B chromosome of maize. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 3: 201- 226.
- Carlson WR & Roseman R (1992) A new property of the maize B chromosome. *Genetics*, 131: 211-223.
- Cascales J, Bracco M, Gottlieb AM, Poggio L & Lia VV (2011) Evaluación de la variabilidad microsatélite de accesiones de maíces del NEA. 33° Jornadas Argentinas de Botánica, Posadas, Misiones, Argentina. Libro de resúmenes pp 272.
- Chang TT (1985) Crop history and genetic conservation: rice - a case study. *Iowa State Journal of Research*, 59: 425-455.
- Chen Ch, Durand E, Forbes F & François O (2007) Bayesian clustering algorithms ascertaining spatial population structure: a new computer program and a comparison study. *Molecular Ecology Notes* 7: 747–756.
- Dellaporta IK, Wood J & Hicks JB (1983) A plant DNA miniprep: version II. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1: 19-21.



- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW (2008) InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Dodds JH (1991) In Vitro Methods for Conservation of Plant Genetic Resources. Chapman & Hall, London, 240 pp.
- Doebley JF (1990a) Molecular systematics of *Zea* (Gramineae). *Maydica*, 35: 143-150.
- Doebley JF (1990b) Molecular evidence and the evolution of maize. *Econ. Bot.*, 44: 6-27.
- Doebley JF (1990c) Molecular evidence for gene flow among *Zea* species. *BioScience*, 40: 443-448.
- Doebley JF & Iltis HH (1980) Taxonomy of *Zea* (Gramineae). I. A subgeneric classification with key to taxa. *Amer. J. Bot.*, 67: 982-993.
- Doebley JF, Goodman MM & Stuber CW (1983) Isozyme variation in maize from the southwestern United States: Taxonomic and anthropological implications. *Maydica*, 28: 97-120.
- Doebley JF, Goodman MM & Stuber CW (1985) Isozyme variation in the races of maize from Mexico. *Amer. J. Bot.*, 72: 629-639.
- Doebley JF, Goodman MM & Stuber CW (1986) Exceptional genetic divergence of northern flint corn. *Amer. J. Bot.*, 73: 120-131.
- Doebley JF, Goodman MM & Stuber CW (1987a) Patterns of Isozyme variation between maize and Mexican annual teosinte. *Econ. Bot.*, 41: 234-246.
- Doebley JF, Renfroe W & Blanton A (1987b) Restriction site variation in the *Zea* chloroplast genome. *Genetics*, 117: 139-147.
- Doebley JF, Wendel D, Smith JSC, Stuber CW & Goodman MM (1988) The origin of Corn Belt maize. The isozyme evidence. *Econ. Bot.*, 42: 120-131.
- Doolittle EW & Mabry JB (2006) Environmental mosaic, agricultural diversity, and the evolutionary adoption of maize in the American Southwest. In: Histories of maize multidisciplinary approaches to the prehistory, linguistics, biogeography, domestication and evolution of maize. Staller JE, Tykot RH & Benz B (eds.). Academic Press. San Diego. pp. 109-121.
- Dubreuil P & Charcosset A (1998) Genetic diversity within and among maize populations: a comparison between isozyme and nuclear RFLP *loci*. *Theoretical and Applied Genetics*, 96: 577-587.

- El Mousadik A & Petit R (1996) High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree (*Argania spinosa* (L.) Skeels) endemic to Morocco. *Theoretical and Applied Genetic*, 92: 832–839.
- Estoup A & Cornuet JM (1999) Microsatellite evolution: inferences from population data, pp. 49-65 in *Microsatellites: Evolution and Applications*. Goldstein D & Schlotterer C (eds). Oxford University Press, New York.
- Evanno G, Regnaut S & Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14: 2611–2620.
- Excoffier L (2007) Analysis of population subdivision. In: *Handbook of Statistical Genetics*, 3rd Edn. D. Balding M & Bishop C (eds.). Wiley. New York, USA pp. 980–1020.
- Excoffier L, Smouse P & Quattro J (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131: 479–491.
- Eyre-Walker A, Gaut RL, Hilton H, Feldman DL & Gaut BA (1998) Investigation of the bottleneck leading to the domestication of maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95: 4441-4446.
- Flannery, KV (1986) The Research Problem. In: *GuiláNaquit: Archaic foraging and early agriculture in Oaxaca, Mexico*. Flannery KV (ed.). Academic Press, New York. pp. 3-18.
- Fontana JL (2005) *Folia botánica ET geobotánica correntesiana*. Publicaciones del *Herbarium Humboldtianum*, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, Universidad Nacional del Nordeste. Capítulo 19.
- Fourastié MF (2010) Caracterización de razas nativas de maíz del Noroeste argentino mediante citogenética clásica y molecular (FISH). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA.
- Fukunaga K, Hill J, Vigouroux Y, Matsuoka Y, Sánchez GJ, Liu K, Buckler ES & Doebley JF (2005) Genetic diversity and population structure of teosinte. *Genetics*, 169: 2241-2254.
- Goldstein DB, Linares AR, Cavalli-Sforza LL & Feldman MW (1995) An evaluation of genetic distances for use with microsatellite *loci*. *Genetics*, 139: 463-471.

- Goloubinoff P, Paabo S & Wilson A (1993) Evolution of maize inferred from sequence diversity of an *Adh2* gene segment from archaeological specimens. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 1997-2001.
- González G, Fourastié MF, García AM, Cámara-Hernández J & Poggio L (2009a) La variación de los *knobs* heterocromáticos permite caracterizar razas de maíz del noroeste Argentino. BAG Sociedad Argentina de Genética. Libro de resúmenes pp. 79.
- González G, Fourastié MF & Poggio L (2009b) Characterization of maize and teosinte using the variation in their knobs sequences. Maize Genet Coop. NL, 83: 01-02.
- González G, Fourastié MF & Poggio L (2010) Karyotype comparison between *Zea luxurians* and maize Amarillo Chico through DAPI-banding and FISH of *knob* sequence. Maize Genet Coop. N. L., 84: 7.
- Goodman MM & Bird RM (1977) The races of maize IV: tentative groupings of 219 Latin American races. Econ. Bot., 31: 204-221.
- Goodman MM & Stuber CW (1983) Races of maize IV. Isozyme variation among races of maize in Bolivia. Maydica, 28:169-187.
- Goodman MM & Brown WL (1988) Races of corn. In: Corn and corn improvement. Sprague GF & Dudley JW (eds.) Agronomy Monographs N° 18. American Society of Agronomy. Madison, WI. pp. 33 –79.
- Goudet J (2001) *FSTAT*, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). URL <http://www2.unil.ch/popgen/>.
- Grant UJ, Hatheway WH, Timothy DH, Cassalet C & Roberts LM (1963) Races of maize in Venezuela. Nat. Acad. Sci. Nat. Res. Council, Publ. 1136. Washington, DC. pp. 1-92.
- Grobman A, Salhuana W, Sevilla R & Mangelsdorf PC (1961) Races of maize in Peru. Natl. Acad. Sci. Natl. Res. Council, Washington, DC., 915: 1-374.
- Grobman A, Bonavia D, Dillehay TD, Piperno DR, Iriarte J & Holst I (2012) Pre-ceramic maize from Paredones and Huaca Prieta, Peru. Proc. Natl. Acad. Sci., 109: 1755-1759.
- Hardy OJ & Vekemans X (2002) SPAGeDi: a versatile computer program to analyze spatial genetic structure at the individual or population levels. Mol. Ecol. Notes, 2: 618–620.

- Hardy OJ, Charbonnel N, Freville H & Heuertz M (2003) Microsatellite allele sizes: a simple *test* to assess their significance on genetic differentiation. *Genetics*, 163: 1467–1482.
- Harshberger JW (1986) Maize, a botanical and economic study. Contributions of the Botanical Laboratory, University of Pennsylvania, Philadelphia. pp. 75-202.
- van Heerwaarden J, Doebley J, Briggs WH, Glaubitz JC, Goodman MM, Sanchez Gonzalez JJ & Ross-Ibarra J (2011) Genetic signals of origin, spread, and introgression in a large sample of maize landraces. *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.*, 108: 1088–1092.
- Horovitz S (1935) Distribución geográfica de factores genéticos en los maíces autóctonos del norte argentino. *Revista Argentina de Agronomía*, 2: 133-135.
- Huson DH & Bryant D (2006) Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Molecular Biology and Evolution*, 23: 254–267.
- Iltis HH & Doebley JF (1980) Taxonomy of *Zea* (Gramineae). II. Subspecific categories in the *Zea mays* complex and a generic synopsis. *Amer. J. Bot.*, 67:994- 1004.
- Iltis HH & Benz BF (2000) *Zea nicaraguensis* (Poaceae), a new teosinte from Pacific Coastal Nicaragua. *Novon*, 10: 382-390.
- Iriondo Alegría JM (2001) Conservación de germoplasma de especies raras y amenazadas *Invest. Agr. Prod. Prot. Veg.*, 16: 5-24.
- Jones RN (1995) Tansley Review No. 85. B chromosome in plants. *New Phytology*, 131: 411- 434.
- Jones RN & Rees H (1982) B Chromosomes. Academic Press, N.Y. 1982 pp.
- Jones N & Houben A (2003) B chromosomes in plants: escapees from the A chromosome genome? *Trends in Plant Science*, 8: 417-423.
- Kahler AL, Hallauer AR & Gardner C (1986) Allozyme polymorphism within and among open-pollinated and adapted exotic populations of maize. *Theoretical and Applied Genetics*, 72: 592–601.
- Kato TA (1976) Cytological studies of maize (*Zea mays* L.) and teosinte (*Zea mexicana* Schader Kuntze) in relation to their origin and evolution. *Mass. Agric. Exp. Stn. Bull.* 635:1–186.
- Kato TA (1984) Chromosome morphology and the origin of maize and its races. *Evol. Biol.*, 17: 219-253.

- Kato TA (2005) Cómo y dónde se originó el maíz. *Investigación y Ciencia*, 347: 68-72.
- Kato TA, Mapes C, Mera LM, Serratos JA & Bye RA (2009) Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México D.F. 116 pp.
- Kimura M & Crow JF (1964) The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 49: 725-738.
- Kimura M & Ohta T (1978) Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in finite populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75: 2868-2872.
- Lewin B (1994) *Genes V*. Oxford University Press, New York.
- Lia VV (2004) Diversidad genética y estructura poblacional en razas nativas de maíz (*Zea mays* ssp. *mays*) del Noroeste Argentino: presente y pasado del germoplasma autóctono. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA. 193 pp.
- Lia VV, Confalonieri VA & Poggio L (2007a) B chromosome polymorphism in maize landraces: adaptive vs. demographic hypothesis of clinal variation. *Genetics*, 177: 895–904.
- Lia VV, Confalonieri VA, Ratto N, Cámara Hernández JA, Miente Alzogaray, Poggio L & Brown TA (2007b) Microsatellite typing of ancient maize: insights into the history of agriculture in southern South America. *Proceedings of the Royal Society, B, Biological Sciences*, 274: 545 – 554.
- Lia VV, Poggio L & Confalonieri VA (2009) Microsatellite variation in maize landraces from Northwestern Argentina: genetic diversity, population structure and racial affiliations. *Theoretical and Applied Genetic*, 119: 1053–1067.
- Liu K, Goodman M, Muse S, Smith JS & Buckler E (2003) Genetic structure and diversity among maize inbred lines as inferred from DNA microsatellites. *Genetics*, 165:2117–2128.
- Liu K & Muse SV (2005) PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 21: 2128–2129.
- Longley AE (1938) Chromosomes of maize from North American Indians. *Journal of Agronomy Research*, 56: 177-195.

- MacNeish RS (1967) Summary of subsistence. In: The prehistory of the Tehuacan valley. Byers DS (ed.). Environment and subsistence. Austin, Texas. University of Texas Press, 1: 290-309.
- MAIZAR (2010) Informe: "Serie de estudios sectoriales: caso del maíz". [www.maizar.org.ar](http://www.maizar.org.ar).
- Mangelsdorf PC (1974) Corn. Its origin, evolution, and improvement. The Belknap Press of Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts. 262 pp.
- Mangelsdorf PC & Reeves RG (1939) The Origin of Indian Corn and its relatives. Texas Agric. Expt. Sta. Bulletin, 574: 177-195.
- Mangelsdorf PC & Cameron JW (1942) Western Guatemala: a secondary center of origin of cultivated maize varieties. Botanical Museum Leaflet of Harvard University, 10: 217- 252.
- Mangelsdorf PC, MacNeish RS & Galinat WC (1964) Domestication of corn. Science, 143: 538-545.
- Martínez-Crovetto R (1968) La alimentación entre los indios guaraníes de Misiones (República Argentina). Etnobiológica, 4: 1-24.
- Matsuoka Y, Vigouroux Y, Goodman MM, Sanchez G. JJ, Buckler E & Doebley JF (2002a) A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. Proc. Natl. Acad. Sci., 99: 6080-6084.
- Matsuoka Y, Mitchell SE, Kresovich S, Goodman MM & Doebley JF (2002b) Microsatellites in *Zea* - variability, patterns of mutations, and use for evolutionary studies. Theoretical and Applied Genetics, 104: 436-450.
- Maxted N, Ford-Lloyd BV, Hawkes JG (1997) Complementary Conservation Strategies. In: Plant Genetic Conservation. The in situ approach. Maxted N, Ford-Lloyd BV & Hawkes JG (eds.). pp. 15-40.
- McClintock B (1959) Genetic and cytological studies of maize. Carnegie Inst. Wash. Year book 58: 452- 456.
- McClintock B (1978) Significance of chromosome constitutions in tracing the origin and migration of races of maize in the Americas. In: Maize Breeding and Genetics. Walden DB (ed.). John Wiley and Sons, New York. pp 159-184.
- McClintock B, Kato TA & 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 Postgraduados, Chapingo, Mexico.

- Melchiorre P, Bartoloni N, Cámara Hernández J (2006) Phenetic relationships among native races of maize (*Zea mays* ssp. *mays*) from North-eastern Argentina (Misiones). *Journal of Genetics and Breeding*, 60: 173–182.
- Nei M (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*. New York, USA: Columbia University Press.
- Oliveira Freitas F, Bendel G, Allaby RG & Brown T (2003) DNA from primitive maize landraces and archaeological remains: implications for the domestication of maize and its expansion into South America. *Journal of Archaeological Science*, 30: 901–908.
- Olsen KM & Gross BL (2008) Detecting multiple origins of domesticated crops. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 105:13701-13702.
- Ortiz R, Taba S, Chávez Tovar VH, Mezzalama M, Xu Y, Yan J & Crouch JH (2010) Conserving and enhancing maize genetic resources as global public goods—A perspective from CIMMYT. *Crop Science*, 50:13–28 (2010).
- Paterniani E & Goodman MM (1978) Races of maize in Brazil and adjacent areas. CIMMYT, Mexico.
- Peakall R & Smouse PE (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6: 288–295.
- Piperno DR & Flannery KV (2001) The earliest archaeological maize (*Zea mays* L.) from highland Mexico: new accelerator mass spectrometry dates and their implications. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 98: 2101-2103.
- Poggio L, Rosato M, Chiavarino AM & Naranjo CA (1998) Genome size and environmental correlations in maize (*Zea mays* ssp. *mays*, Poaceae). *Annals of Botany*, 82: 107-115.
- Porter HL & Rayburn AL (1990) B-chromosome and C-band heterochromatin variation in Arizona maize populations adapted to different altitudes. *Genome*, 33: 659-662.
- Pressoir G & Berthaud J (2004) Patterns of population structure in maize landraces from the Central Valleys of Oaxaca in Mexico. *Heredity*, 92:88–94.
- Pritchard JK, Stephens M & Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945–959.

- Ramírez ER, Timothy DH, Díaz B. E, Grant UJ in collaboration with Nicholson C. GE, Anderson E, & Brown WL (1960) Races of Maize in Bolivia. Natl. Acad. Sci. Natl. Res. Council, Publ. 747. Washington, DC. 159 p.
- Rayburn AL (1990) Genome size variation in Southern United States Indian maize adapted to various altitudes. *Evolutionary Trends in Plants*, 4: 53-57.
- Rayburn AL, Price HJ, Smith JD & Gold JR (1985) C-band heterochromatin and DNA content in *Zea mays*. *American Journal of Botany*, 72: 1610-1617.
- Raymond M & Rousset F (1995) Genepop (version 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J Hered*, 86:248-249.
- Rebourg C, Chastanet M, Gouesnard B, Welcker C, Dubreuil P & Charcosset A (2003) Maize introduction into Europe: the history reviewed in the light of molecular data. *Theoretical and Applied Genetics*, 106: 895-903.
- Reif JC, Xia XC, Melchinger AE, Warburton ML, Hoisington DA, Beck D, Bohn M & Frisch M (2004) Genetic diversity determined within and among CIMMYT maize populations of tropical, subtropical, and temperate germplasm by SSR markers. *Crop Science*, 44, 326-334.
- Reif JC, Warburton ML, Xia XC, Hoisington DA, Crossa J, Taba S, Muminovic J, Bohn M, Frisch M & Melchinger AE (2006) Grouping of accessions of Mexican races of maize revisited with SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 113, 177-185.
- Reynolds J, Weir BS & Cockerham CC (1983) Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics* 105: 767-779.
- Rice W (1989) Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, 43: 223-225.
- Roberts LM, Grant UC, Ramírez ER, Hatheway WH & Smith DL in collaboration with Mangelsdorf PC (1957) Races of maize in Colombia. Nat. Acad. Sci., Nat. Res. Council, Publ. 510. Washington, D. C. pp. 1-153.
- Rosato M (1997) Tamaño del genoma, heterocromatina, polimorfismo numérico y herencia de cromosomas B en razas nativas de maíz. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. pp. 145.
- Rosato M, Chiavarino AM, Naranjo CA, Cámara Hernandez JA & Poggio L (1998) Genome size and numerical polymorphism for the B chromosome in races of maize (*Zea mays* ssp. *mays*, Poaceae). *American Journal of Botany*, 85: 168-174.



- Saitou N & Nei M (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4: 406–425.
- Sánchez G. JJ, Goodman MM & Rawlings JO (1993) Appropriate characters for racial classification in maize. *Economic Botany*, 47: 44-59.
- Sánchez G. JJ, Stuber CW & Goodman MM (2000) Isozymatic diversity in the races of maize of the Americas. *Maydica*, 45: 185-203.
- Sánchez G JJ, Goodman MM, Mc Bird M & Stuber CW (2007) Isozyme and morphological variation in maize of five Andean countries. *Maydica*, 51: 25–42.
- Santacruz-Varela A, Widrechner MP, Ziegler KE, Salvador RJ, Millard MJ, Bretting PK (2004) Phylogenetic relationships among North American popcorns and their evolutionary links to Mexican and South American popcorns. *Crop Science*, 44:1456–1467.
- Senior ML, Murphy JP, Goodman MM & Stuber CW (1998) Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system. *Crop Science*, 38: 1088-1098.
- Slatkin M (1995) A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139: 457–462.
- Taller JM & Bernardo R (2004) Diverse adapted populations for improving Northern maize inbreds. *Crop Science*, 44: 1444-1449.
- Timothy DH, Peña V. B, Ramírez ER, in collaboration with Brown WL & Anderson E (1961) Races of Maize in Chile. *Nat. Acad. Sci, Nat. Res. Council, Publ. 847*. Washington, D.C. 84 p.
- Timothy DH, Hatheway WH, Grant UJ, Torregroza C. M, Sarria V.D & Varela AD (1963) Races of Maize in Ecuador. *Nat. Acad. Sci., Nat. Res. Council, Publ. 975*. Washington, D.C. 147 pp.
- Timothy DH, Levings CS, Pring DR, Conde MF & Kermicle JL (1979) Organelle DNA variation and systematic relationships in the genus *Zea*: Teosinte. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76: 4220-4224.
- Toledo VM & Ordoñez MJ (1993) The biodiversity scenario of Mexico: a review of terrestrial habitats. In: *Biological diversity of Mexico: Origins and distribution*. Ramamoorthy TP, Bye R, Lot A & Fa J (eds.) Oxford University Press, New York, USA. pp. 757-777.

- Torregrosa M, Cámara Hernandez J, Solari L, Safont Lis J & Cavalieri O (1980) Clasificación preliminar de formas raciales de maíz y su distribución geográfica en la República Argentina. II Congreso Nacional de Maíz, Pergamino, Buenos Aires, Argentina. Libro de resúmenes pp. 5-17.
- Vavilov NI (1926) The centers of origin of cultivated plants. *Appl. Bot. Plant Breed.*, 16: 248 pp.
- Viglizzo EF, Ricard MF, Jobbágy EG, Frank FC & Carreño LV (2011) Assessing the cross-scale impact of 50 years of agricultural transformation in Argentina. *Field Crops Research*, 124. 186–194.
- Vigouroux Y, Jaqueth JS, Matsuoka Y, Smith OS, Beavis WD, Stephen J, Smith C & Doebley JF (2002) Rate and pattern of mutation at microsatellite *loci* in maize. *Molecular Biology and Evolution*, 19: 1251-1260.
- Vigouroux Y, Glaubitz JC, Matsuoka Y, Goodman MM, Sánchez G. J & Doebley JF (2008) Population structure and genetic diversity of new world maize races assessed by DNA microsatellites. *Amer. J. Bot.*, 95: 1240-1253.
- Waits LP, Luikart G & Taberlet P (2001) Estimating the probability of identity among genotypes in natural populations: cautions and guidelines. *Molecular Ecology*, 10: 249–256.
- Weir B & Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358–1370.
- Wellhausen E, Roberts LM, Hernández XE & Mangelsdorf PC (1951) Razas de maíz en México, su origen, características y distribución. Folleto Técnico n°5, Oficina de Estudios Especiales, Secretaría de Agricultura y Ganadería. México, D. F. 237 pp.
- Wilkes HG (1967) Teosinte: The closest relative of maize. The Bussey Institution of Harvard University. 159 pp.
- Wright S (1965) The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19: 395-420.
- Wright S (1978) Variability within and among natural populations in *Evolution and the Genetics of Populations*. Chicago, IL, USA: University of Chicago Press. 290 pp.
- Xia XC, Reif JC, Hoisington DA, Melchinger AE, Frisch M & Warburton ML (2004) Genetic diversity among CIMMYT maize inbred lines investigated with SSR markers: I. Lowland tropical maize. *Crop Science*, 44:2230–2237.

Xia XC, Reif JC, Melchinger AE, Frisch M, Hoisington DA, Beck D, Pixley K & Warburton ML (2005) Genetic diversity among CIMMYT maize inbred lines investigated with SSR markers: II. Subtropical, tropical midaltitude, and highland maize inbred lines and their relationships with elite U.S. and European maize. *Crop Science*, 45:2573–2582.

## Apéndice

### Protocolo de extracción de ADN: Dellaporta et al. (1983) modificado

- Pulverizar 200 a 300 mg de material vegetal fresco en aire líquido.
- Transferir a microtubo conteniendo 500 µl de *buffer* de extracción y 35 µl de SDS 20% (p/v).
- Incubar durante 10 min. a 65 °C con agitación.
- Agregar 175 µl de acetato de potasio 5 M pH 5,2.
- Precipitar en hielo durante 20 min.
- Centrifugar a 13.000 rpm durante 15 min.
- Transferir el sobrenadante a un microtubo limpio.
- Agregar 1 volumen de fenol-cloroformo-isoamílico (25:24:1). Mezclar suavemente por inversión.
- Centrifugar a 13.000 rpm durante 5 min.
- Transferir el sobrenadante a un microtubo limpio.
- Agregar 1/10 volumen de acetato de sodio pH 5,2 y 2 volúmenes de etanol absoluto.
- Precipitar a -20 °C durante 2-3 horas.
- Centrifugar a 13.000 rpm durante 10 min.
- Descartar el sobrenadante y agregar 1 ml de etanol 70% para el lavado.
- Centrifugar a 13.000 rpm durante 5 min. y repetir el lavado.
- Descartar el sobrenadante y dejar secar.
- Resuspender en 100 µl de *buffer* TE (ver apéndice).
- Agregar 2 µl de RNAsa (10 mg/ml) e incubar a 37 °C durante una hora.
- Conservar a -20 °C.

## Soluciones

### Electroforesis en geles de agarosa

#### Buffer TAE 50X

Tris	60,5g
EDTA 0,5 M pH 8	25ml
Ácido acético Glacial	14,3ml
H <sub>2</sub> O bi-distilada	hasta 250ml

#### Buffer de siembra

Glicerol	3 ml
Azul de bromofenol	pta. de espátula
H <sub>2</sub> O bi-distilada	7 ml

### Electroforesis en geles de poliacrilamida

#### Buffer TBE 5X

Tris	54 g
Ácido bórico	27,5 g
EDTA 0,5 M pH 8	20 ml
H <sub>2</sub> O bi-distilada	hasta 1000 ml

#### Solución stock Acrilamida-Bisacrilamida (29:1) 30%

Acrilamida	145 g
Bis-acrilamida	5 g
H <sub>2</sub> O bi-distilada	hasta 500 ml

Filtrar y conservar a 4 °C.

#### Geles desnaturalizantes 6%

TBE 5X	12 ml
--------	-------

---

Acrilamida-Bisacrilamida 30%	12 ml
Urea	28,8 g
TEMED (diamina de N,N,N,N'-tetrametiletileno)	60 µl
Persulfato de Amonio 25% p/v	36 µl
H2O bi-destilada	hasta 60 ml

Buffer de siembra

Formamida	950 µl
Azul de Bromofenol	1 mg
Xylene Cyanol	1 mg
EDTA 0,5 M pH 8	20 µl
H2O bi-destilada	hasta 1000 µl

**Técnica citogenética**

Hematoxilina acética

Hematoxilina (Merck)	1 gr.
Acido Acético Glacial	45 ml
Agua destilada estéril	55 ml

## **Frecuencias alélicas**

A continuación se detallan las frecuencias alélicas correspondientes a los 15 *loci* analizados para las poblaciones de Misiones (Tablas A1-A15) y de las accesiones del Banco de Germoplasma INTA- Pergamino (Tablas A16-A30). Las equivalencias alélicas respecto a lo descrito por otros autores (v.g., Liu *et al.*, 2003; Matsuoka *et al.*, 2002b) para líneas y razas nativas del Continente Americano pueden consultarse en Lia (2004; apéndice Tablas A1-18). Las líneas de elite empleadas fueron: A632, B164, B77, B37, Oh43, Tx303, CM37, CM105, C103, I29, K55, Va102, L317, DE811, EPI, SA24, HP301 y W64a. La nomenclatura alélica del material analizado en esta Tesis es equivalente a la de Lia (2004).

**Tabla A1.** Alelos detectados en las poblaciones de razas nativas de la Provincia de Misiones

Población-Raza	N	Alelos del locus <i>bnlg1866</i>										N	Alelos del locus <i>phi037</i>						N	Alelos del locus <i>bnlg1018</i>													
		112	122	126	128	130	132	130	132	136	156		160	162	124	134	136	138															
6586-Blanco ancho	20																																
6615-Blanco ancho	32																																
6602-Blanco ancho	28																																
BA-Blanco angosto	60																																
6610-Blanco angosto	40																																
6592-Tupí blanco	30																																
6595-Overo	16																																
6617-Overo	20																																
6601-Overo	30																																
Co-Colorado de Misiones	40																																
6604-Colorado de Misiones	34																																
6597-Azul de Misiones	40																																
6585-Variegado	38																																
RoA-Rosado	38																																
RoB-Rosado	38																																
6593-Amarillo angosto	56																																
6591-Amarillo angosto	32																																
6611-Amarillo ancho	44																																
6619-Tupí amarillo	30																																
6608-Tupí amarillo	34																																
6596-Pipoca colorado	40																																
6618-Pipoca colorado	58																																
6605-Pipoca amarillo	40																																
6614-Pororó grande	40																																
6607-Pororó azul	46																																

N: número de alelos estudiados en cada caso.



**Tabla A2.** Alelos detectados en las poblaciones de razas nativas de la Provincia de Misiones

Población-Raza	N	Alelos del locus <i>bnlg1329</i>				N	Alelos del locus <i>bnlg1108</i>								N	Alelos del locus <i>bnlg1182</i>		N	Alelos del locus <i>bnlg252</i>					
6586-Blanco ancho		88	90	92	94		108	110	112	114					78			156	158	160				
	20	12	1	3	4	20	2	6	1	11				20	20	20	10	5	5					
6615-Blanco ancho		88	90	92	94				112	116	118		128		76	78		156	158					
	32	20	8	3	1	32			6	14	1		1	32	8	24	32	3	9					
6602-Blanco ancho		88	90	92	94		108	110	112	114	118		126		78			156	158	160				
	28	5	7	7	9	24	10	3	3	6	1		1	30	30	28	19	3	3					
BA-Blanco angosto		88	90	92	94		108	110	112	114	118	120	122		78			156	158	160				
	60	22	17	14	7	60	12	9	7	16	2	3	1	60	60	60	15	34	11					
6610-Blanco angosto		86	88	90	92	94		108		112	114	118		76	78			156	158	160				
	40	1	16	3	13	7	38	9		9	8	2		40	6	34	40	30	9	1				
6592-Tupí blanco		88			94		108	110	112	114	116		128	132	134			156	158	160				
	32	31			1	30	1	5	16	1	4		3	32	32	28	15	1	12					
6595-Overo		88	90	92	94		108	110	112	114				76	78		154	156	160					
	16	5	1	6	4	16	3	2	5	3				16	2	14	16	3	9	4				
6617-Overo		86	88	90	92		108		112	114		126	130		78			154	156	158	160	162		
	20	1	6	2	2	9	20	1		3	13		1	20	20	20	2	8	3	6	1			
6601-Overo		88	90	92	94		108	110	112	114	118		128	132				156	158	160				
	32	6	6	12	8	28	10	1	8	6	1		1	34	34	32	7	15	10					
Co-Colorado de Misiones		88	90	92	94		108			114			130		76	78		156	158	160	162			
	40	24	10	5	1	36	9			23			4	40	2	38	40	21	16	2	1			
6604-Colorado de Misiones		88		92	94		108	110	112	114	116		126	130	132			154	156	158	160			
	24	20		3	1	20	3	4	1	6	3		1	1	1	24	5	19	4	15	1	4		
6597-Azul de Misiones		88	90	92			108		112	114	116		128		76	78		156	158	160				
	40	34	1	5		36	6		12	15	1		1	40	10	30	40	19	20	1				
6585-Variegado		88	90	92			108		112	114	116				78			154	156	158	160			
	38	25	7	6		36	5		4	25	2			38	38	38	2	13	12	11				
RoA-Rosado		88	90	92					112	114	116		130	132	134	136		156	158	160				
	40	15	23	2		36			7	21	3		1	1	2	1	38	9	29	40	10	16	14	
RoB-Rosado		86	88	90	92	98		110	112	114	116	122			76	78		156	158	160				
	38	2	9	5	10	2	34		8	5	9	10	2	40	5	35	40	19	16	5				
6593-Amarillo angosto		88	90	92	94		108	110	112	114	116		128	130	134			154	156	158	160			
	56	4	35	15	12	56	2	14	14	4	18		1	1	2	54	19	35	56	15	20	10	11	
6591-Amarillo angosto		88	90	92	94					116			130	132	134			156	158	160				
	32	10	8	12	2	30				23			2	3	2	32	32	32	17	13	2			
6611-Amarillo ancho		88	90	92	94	96		110		114	116				76	78		156	158	160	162	164		
	46	14	22	6	2	2	40		16	9	15			48	3	45	46	152	156	160	162	3		
6619-Tupí amarillo		86	88	90	92	94	96		110		114	116	120	124				152	156	160	162			
	28	1	14	3	4	3	28		1		2	23	1	1			30	5	25	24	2	1	17	4
6608-Tupí amarillo		86	88		92	96	98			112	114	116			74	76	78		152	156	158	160	162	
	36	1	17		6	3	9	30		2	1	24		3			34	1	1	16	4	4		
6596-Pipoca colorado		88							112	114				78	80			150	152	158				
	40	40					40		11	29				40	5	35	40	11	7	22				
6618-Pipoca colorado		88		92			108			114			130		76	78	80		150	158				
	58	57		1			58		1	56			1	58	1	18	39	58	7	51				
6605-Pipoca amarillo		88	90		96				112	114			130		78	80	100		154	158	164			
	40	11	11		18		40		26	13			1	40	3	28	9	40	2	29	9			
6614-Pororó grande		88	90			102	104		106		112	114	116		78	80		150	152	154	156			
	40	15	8			12	5	40	1		35	3	1	40	25	15	38	3	4	14	17			
6607-Pororó azul		88						108	110	112	114	116		78	80			150	152	156	158			
	50	50					48	3	2	5	37	1		50	18	32	48	11	16	3	18			

N: número de alelos estudiados en cada caso.

**Tabla A3.** Alelos detectados en las poblaciones de razas nativas de la Provincia de Misiones

Población-Raza	Alelos del locus <i>bnlg105</i>					Alelos del locus <i>bnlg1287</i>					Alelos del locus <i>bnlg1732</i>			
	N					N					N			
6586-Blanco ancho		74				144	150	152	154	162		100		
	20	20				20	4	4	7	2	3	20	20	
6615-Blanco ancho		74				144	150	152	154	162		100		
	32	32				32	8	10	8	5	1	32	32	
6602-Blanco ancho		74				144	150	152	154			100	104	
	28	28				30	9	2	10	9		30	22	8
BA-Blanco angosto	70	74				144	150	152	154			100	104	106
	58	1	57			60	5	12	27	16		60	55	4
6610-Blanco angosto		74	78			144	148	150	152	154	162	100	104	106
	40	39	1			40	6	2	8	16	7	40	35	4
6592-Tupí blanco		72	74	84		144	150	154				100		
	32	7	24	1		32	5	22	5			32	32	
6595-Overo		74	78	86		144	152	154				100	104	
	16	9	6	1		16	3	7	6			16	15	1
6617-Overo		72	74	78		144	150	154				100	104	
	20	7	8	5		20	14	1	5			20	18	2
6601-Overo		74	78			144	148	150	152	154		100	106	
	30	24	6			32	9	1	11	3	8	32	31	1
Co-Colorado de Misiones		72	74	78		144	150	152	154			100	104	
	40	1	33	6		40	14	6	10	10		40	36	4
6604-Colorado de Misiones	70	74	78	86		144	150	152	154			100	106	
	24	1	18	4	1	24	7	7	5	5		24	23	1
6597-Azul de Misiones	70	74	78			144	150	154				100		
	40	1	38	1		40	12	16	12			40	40	
6585-Variegado	70	74				144	150	152	154	156		100		
	38	1	37			38	4	20	6	6	2	38	38	
RoA-Rosado		74	78	80	86		144	150	152	154	156	100	102	
	40	26	2	1	1	40	10	8	7	13	2	40	38	2
RoB-Rosado		72	74	78		144	148	150	152	154	158	100	102	104
	40	6	3	2		38	3	2	6	14	12	38	29	3
6593-Amarillo angosto	70	72	74			144	150	152	154	156		100	104	106
	56	2	4	15		50	11	2	9	21	7	56	47	8
6591-Amarillo angosto		74	78			144	150	152	154			100	106	
	30	18	9			32	4	2	10	16		32	27	5
6611-Amarillo ancho		74	78	80		144	150	152	154		166	100	102	
	48	18	4	3		44	6	28	5	1	4	46	39	7
6619-Tupí amarillo		72	74			144	150	152	154	162		100	102	
	30	27	2			30	7	2	20	1		30	24	6
6608-Tupí amarillo		72	74			144	150	152	154	156		98	100	102
	36	28	4			36	9	15	5	4	3	36	2	20
6596-Pipoca colorado		72	74			144	150	152	154			100		
	40	17	23			40	18	5	2	15		40	40	
6618-Pipoca colorado		72	74			144	154					100		
	56	27	29			58	54		4			58	58	
6605-Pipoca amarillo		74				144	150	152	154			100		
	36	29				38	1	11	23	3		40	40	
6614-Pororó grande		72	74	80		144	154					100		
	40	1	36	1		38	37		1			40	40	
6607-Pororó azul		74				144	150	154				100		
	46	46				50	27	8	15			50	50	

N: número de alelos estudiados en cada caso.

**Tabla A4.** Alelos detectados en las poblaciones de razas nativas de la Provincia de Misiones

Población-Raza	N	Alelos del locus <i>bnlg1740</i>							N	Alelos del locus <i>bnlg1070</i>								
		118	120	122	124	126	128	228		235	246	248	254	264				
6586-Blanco ancho		118	120	122	124	126	128		228	235	246	248	254	264				
	20	1	1	2	6	5	5	20	9	1	2	1	5	2				
6615-Blanco ancho		118			124		128		226	228	246		252					
	28	5			8		15	32	2	11	2		17					
6602-Blanco ancho		116	118		122	124	126	128	212	226	228	246	252	254				
	24	2	4		2	11	2	3	28	2	1	12	5	3	5			
BA-Blanco angosto		112	114	118	120	122	124	126		228	232	235	246	248	252			
	58	1	1	1	4	3	27	21	60	31	3	7	5	12	2			
6610-Blanco angosto					120	122	124	128		228			246	248	252	254		
	40			2	2	17		19	38				16	1	1	1		
6592-Tupí blanco		118		122	124		128	134		222	226	235	246	250	252	254		
	30	3		12	4		9	2	28	6	1	3	9	1	2	6		
6595-Overo				122	124		128			228	232		244	246	248	254		
	14			4	9		1		16	1	2		2	7	2	2		
6617-Overo				122		126	128		212	228	235	246	248	252				
	18			6		1	11		20	2	3	9	1	3	2			
6601-Overo			120		124	126	128	130	212	222	228	240	242	244	246	248		
	32		5		4	5	16	2	32	5	1	11	3	2	1	7	2	
Co-Colorado de Misiones		116	120		124	126	128		212	228	235	244	246	252	254	256		
	36	3	9		12	1	11		40	1	18	1	1	16	1	1	1	
6604-Colorado de Misiones					124	126	128			222	228	244	246	250	252	254		
	22				13	1	8		24	1	11		3	2	4	1	1	
6597-Azul de Misiones		118	120	122	124					228			246	248	254			
	36	9	15	5	7				40	2			20	2	16			
6585-Variegado		118		122	124		128			228	235		250	252	254	264		
	26	1		16	5		4		38	7	11		5	4	3	8		
RoA-Rosado		116	118	120	122	124	128			228	235	242	244	246	250	252		
	38	2	1	18	2	4	11		40	15	4	2	2	3	5	9		
RoB-Rosado		118	120	122	124		128			228	230	233	235	242	246	248	250	252
	36	1	1	1	22		11		40	18	4	1	1	1	4	4	5	2
6593-Amarillo angosto		118	120		124	126				212	228	230	235	242	246	250		
	50	4	10		35	1			56	1	27	1	9	1	13	4		
6591-Amarillo angosto		118	120	122						228	232		248	250				
	26	4	4	18					32		24	2		4	2			
6611-Amarillo ancho		118	120	122	124	126	128			228	235	240	242					
	34	5	4	10	7	3	5		36	20	12	2	2					
6619-Tupí amarillo		116	118	120		124	128			228	230	232	235	244		258		
	24	10	8	3		2	1		24	9	6	2	5	1		1		
6608-Tupí amarillo		110	116	118		122				222	228	230	233	235	239	240	246	248
	26	3	13	3		7			36	1	8	4	2	9	7	2	2	2
6596-Pipoca colorado			120							212			242	246				
	32		32						40	10			16	14				
6618-Pipoca colorado			120				162					235	242	246				
	54		51				3		58			3	49	6				
6605-Pipoca amarillo			120	122	124		152	162	164	212	228	235	242	246				
	36		3	5	5		2	21	1	40	1	30	4	1	4			
6614-Pororó grande		116									232	235	246		264			
	38	38							36		1	2	16		17			
6607-Pororó azul			120				162			212	222	228	235	242	246			
	38		24				14		50	24	1	1	5	10	9			

N: número de alelos estudiados en cada caso.

**Tabla A5.** Alelos detectados en las poblaciones de razas nativas de la Provincia de Misiones

Población-Raza	N	Alelos del locus <i>bnlg1209</i>							N	Alelos del locus <i>bnlg1360</i>											
6586-Blanco ancho	20	166		174	176	180	182	184	109	119	121	125	127	129							
6615-Blanco ancho	32	166		172	176	180			109	121	125	127			135						159
6602-Blanco ancho	30	166		172	174	176	178	180	109	119	121	125	127	129							155
BA-Blanco angosto	60	166	168	170	172	174	176	178	107	109	119	121	125	127	131	133					2
6610-Blanco angosto	40	166		170	172	174	176	178	56	2	22	4	9	5	8	1	1				155
6592-Tupí blanco	32	166		174	176	180	184		38	5	6	7			3	2	2	4	1	1	6
6595-Overo	16	166				178	180	182	28	12	4	2						3		4	1
6617-Overo	20	166		172	174	176	178	180	109		121	123	129								153
6601-Overo	32	166		172	174	176	178	180	16	2	6	1	4	2	1						1
Co-Colorado de Misiones	40	166		172	174	176	178		20		2	6	3	4	2	2	1				155
6604-Colorado de Misiones	20	166		170	172	174	176	178	28	10					127	129	131				2
6597-Azul de Misiones	40	166		172	176	178	180	184	38	5	5	1	7	6	1	4	4	5			
6585-Variegado	38	160	166	172	174	178	180	182	20	9		1	8		1	1					
RoA-Rosado	38	166		170	172	176	178	180	40	1	2	1	28	1	1	4					
RoB-Rosado	40	166		172	174	178	180	182	38	13	2	5	13		1	1	1	1			141
6593-Amarillo angosto	56	166		172	176	178	180		40	3		2	15	2	4	1	1	3	6	2	149
6591-Amarillo angosto	32	166		172	174	176	178	180	32	6		2	6	2	4	1	4	2		2	151
6611-Amarillo ancho	48	166		172	174	176	178	180	52	5		3	8	1	9	7	4	3	2		161
6619-Tupí amarillo	30	166		172	176	180	182	184	32		111	113	121	123							141
6608-Tupí amarillo	36	166		172	174	176	178	180	32	1	10	9	10								2
6596-Pipoca colorado	40	166		172	174	176	178	180	48	19	3		9	7	8	2					
6618-Pipoca colorado	56	166		172	174	176	178	180	48	19	3		9	7	8	2					
6605-Pipoca amarillo	40	166		172	174	176	178	180	26	11			1	2	2	1	3	1	1	2	151
6614-Pororó grande	40	168		172	176	180			32	2	1	3	3	1	5	1	1	8	1	6	159
6607-Pororó azul	50	168		172	176	180			32	2	1	3	3	1	5	1	1	8	1	6	1

N: número de alelos estudiados en cada caso.

**Tabla A6.** Alelos detectados en las poblaciones de razas nativas de la Provincia de Misiones

<b>Población-Raza</b>	<b>N</b>	<b>Alelos del locus <i>bnlg1526</i></b>									
6586-Blanco ancho	20	114	118	124							
6615-Blanco ancho	32	114	118								
6602-Blanco ancho	28	118									
BA-Blanco angosto	52	114	116	118	120	124					
6610-Blanco angosto	32	108	1	118	120						
6592-Tupí blanco	32	116	118								
6595-Overo	14	120	124								
6617-Overo	20	116	120								
6601-Overo	30	114	116	118	120	122	130	144			
Co-Colorado de Misiones	38	112	114	116	118	120					
6604-Colorado de Misiones	22	114	116	118	120						
6597-Azul de Misiones	36	118	120	124							
6585-Variegado	38	106	116	118	120						
RoA-Rosado	40	112	114	116	118	120	122	128			
RoB-Rosado	38	110	112	114	118						
6593-Amarillo angosto	50	104	112	114	116	118	120	122	130		
6591-Amarillo angosto	26	112	114	116	118	120					
6611-Amarillo ancho	44	112	114	116	118	120	122				
6619-Tupí amarillo	28	112	114	116	118	122	124				
6608-Tupí amarillo	36	108	110	112	114			130	146		
6596-Pipoca colorado	40	114									
6618-Pipoca colorado	58	114	118	122							
6605-Pipoca amarillo	40	108	112	114	118						
6614-Pororó grande	40	3	9	6	22					144	
6607-Pororó azul	46	114	116	118						40	
		39	5	2							

N: número de alelos estudiados en cada caso.

Tabla A7. Alelos detectados en las entradas de razas nativas del Banco de Germoplasma.

	N	Alelos del <i>locus bnlg1866</i>						N	Alelos del <i>locus phi037</i>				N	Alelos del <i>locus bnlg1018</i>										
<b>Entrada-Raza de Chaco</b>																								
ARZM06002-Cristalino amarillo anaranjado	96	112	114				130	132					132	134	138									
	6	1	1	1			2	1				6	3	1	2									
ARZM06050-Cristalino colorado	106	110					126	128					130	132										
	4	1	1				1	1				4	3	1										
ARZM06067-Avati morotí tí	96	112			118		126	128	130				130	132	156	158								
	10	2			3		1	2	1			14	7	2	4	1								
ARZM06109-Avati morotí tí		112			118		126						130	156										
	10				1		7					8	6	2										
ARZM06076-Dentado Blanco	96	112	116	118		124							130	132	156									
	10	1	2	2	3	2						10	4	1	5									
<b>Entrada-Raza de Corrientes</b>																								
ARZM04015-Avati morotí	108	112				124	126	130					130	156	162		132	134	136	138				
	8	2	1			1	1	3				8	4	3	1		8	4	1	2	1			
ARZM04026-Avati morotí		112	114					128	130	132			130	132	156	160		132	134	136	138			
	10		3	3				2	1	1		10	5	2	2	1	6	1	2	2	1			
ARZM04029-Avati morotí	96	112					126	128					130	156				126	132	138				
	8	3	2				1	2				10	8	2			10	4	5	1				
ARZM04025-Avati morotí	96	112			118	122		130					130	132	156	160	162		134	136	138			
	10	1	1		3	1		4				10	5	1	2	1	1	8	4	2	2			
ARZM04018-Camelia		112	114		118		126	130					130	156					128	130	132	134	136	
	10		1	3	1		3	2				10	7	3				10	1	3	1	2	3	
ARZM04060-Calchaquí	96	114	116			126	128						130	156					124		132		138	
	10	1	1	1		6	1					6	3	3				10	1	2		7		
ARZM04063-Canario de Formosa		114				126	130	132					130	156					124		132	134	136	
	8		1			2	4	1				8	7	1				8	1	4	1	2		
<b>Entrada-Raza de Entre Ríos</b>																								
ARZM03011-Dentado Blanco	96	110	112	114		118	122		130	132			130	156					132	134	136			
	10	1	1	1		2	1		1	1		10	9	1				8	1	4	3			
ARZM03030-Dentado Blanco	96	110			116	118	122		130				130	132	156	158	162		130		136			
	10	1	3		2	1	1		2			10	5	2	1	1	1	6	3		3			
ARZM03036-Calchaquí	96	110	112	114	116	118		128	130				130	156					130	132		142		
	8	1	1	1	1	1		1	1			8	5	3				8	1	5	2			
ARZM03021-Cristalino amarillo anaranjado	106	108	110	112			124	128					130	156					118	126	130	132	134	
	10	4	1	2	1		1	1				10	6	4				10	2	1	2	1	4	
ARZM03055-Cristalino amarillo anaranjado	96	112	114		118	122	124	126	130				130	132	156	158			126		132	134	136	140
	10	2	2	1	1	1	1	1	1			10	4	1	3	2		10	1	4	1	2	2	
<b>Entrada-Raza de Formosa</b>																								
ARZM07058-Canario de Formosa	106					122							130						126		134			
	2	1				1						2	2					2	1		1			
ARZM07061-Canario de Formosa	96			114									130	132	156					132	134			
	4	3		1								4	2	1	1			4		3	1			
ARZM07094-Avati morotí		112			116		124						130	156						132	136			
	6				1		2		132			6	3	3				4		1	3			
ARZM07125-Dentado blanco		112	114			126			1				130	132	156					130	134			
	6		3	2		1						4	2	1	1			6		3	3			
<b>Entrada-Raza de Misiones</b>																								
ARZM05074-Venezolano	106	110	112			126							130	132	156				118		132	136	142	
	6	2	2	1		1						6	2	1	3			6	2	2	1	1		
ARZM05067-Avati morotí tí		112				126	128	130					130	132	136	156	158	162		118	126	134	136	138
	10		4			3	2	1				10	3	1	2	1	2	1	10	1	1	3	2	3
ARZM05069-Avati morotí tí	96	112				126	130						130	156	162					134	136			
	8	1	2			1	4					8	5	2	1			6		3	3			
ARZM05077-Avati morotí tí		112			122	126							130	136	161					126	132	134	136	
	6		4		1	1						6	3	2	1			4		1	1	1		
ARZM05118-Avati morotí tí		112				126	128	130					130	156						132	134	138		
	8		2			1	3	2				8	4	4				8		3	1	4		

N: número de alelos estudiados en cada caso.

**Tabla A8.** Alelos detectados en las entradas de razas nativas del Banco de Germoplasma.

	N	Alelos del locus <i>bnlg1329</i>				N	Alelos del locus <i>bnlg1108</i>				N	Alelos del locus <i>bnlg1182</i>		N	Alelos del locus <i>bnlg252</i>			
<b>Entrada-Raza de Chaco</b>																		
ARZM06002-Cristalino amarillo anaranjado		88	90	92		114				78				154	156	160		
	6	4	1	1		6				4	4		6	1	4	1		
ARZM06050-Cristalino colorado		88	90	94		110	114		128	78				156		162		
	4	2	1	1		4	1	2	1	4	4		4	2		2		
ARZM06067-Avati morotí tí		88	90	92	84	110	114	116	120	78				156	158	160		
	14	8	2	3	1	12	1	2	6	12	12		12	9	1	2		
ARZM06109-Avati morotí tí		86	88	90	94	110	112	114	116	78				156	160	162	164	
	10	1	3	2	4	10	2	3	3	10	10		8	3	3	1	1	
ARZM06076-Dentado Blanco		88	90	94		110	114	116	124	126	78			156	158	160	164	
	8	4	2	1		10	1	1	2	4	2	6	10	1	1	4	4	
<b>Entrada-Raza de Corrientes</b>																		
ARZM04015-Avati morotí		90	92	96		110	114	116	118	76	78			158	160	162		
	8	5	1	2		8	1	3	2	8	5		8	2	5	1		
ARZM04026-Avati morotí		88	90	92	94	110	114	116	118	76	78			154	156	158		
	10	5	1	2	2	10	3	4	1	10	6	10	3	2	5			
ARZM04029-Avati morotí		86	88	90	92	114	116		124	76	78			156	158	160		
	10	1	3	1	5	10	8	1	1	8	6	8	3	2	3			
ARZM04025-Avati morotí		90	94	98		110	112	114	116	78				156	160			
	10	6	3	2		8	4	1	1	10	10	10	2	8				
ARZM04018-Camelia		88	90	92	102	110	114	116		76	78		152	156	160	162	164	
	10	6	1	2	1	10	1	7	2	10	8	10	1	1	4	3	1	
ARZM04060-Calchaquí		88	90	94	104	112	116	118		76	78			156	158	160		
	10	6	2	1	1	10	3	5	2	10	8	10	7	2	1			
ARZM04063-Canario de Formosa		88	90	92		110	114	118		76	78			156	158	162		
	8	6	1	1		8	2	4	2	6	4	6	2	3	1			
<b>Entrada-Raza de Entre Ríos</b>																		
ARZM03011-Dentado Blanco		88	90	92	94	110	114	116		76	78			160				
	10	1	7	1	1	8	1	4	3	8	7	10	10	10				
ARZM03030-Dentado Blanco		86	88	90	92	110	114	116		78				156	160	162	164	
	10	1	6	2	1	10	7	1	2	8	8	10	3	3	2	2		
ARZM03036-Calchaquí		88	92		104	110	114			76	78			154	156	158	160	162
	6	2	3		1	8	3	5		8	6	8	1	1	2	3	1	
ARZM03021-Cristalino amarillo anaranjado		88	90	92	94	108	110	114		76	78			152	154	156	158	160
	10	4	1	1	1	10	1	6	3	10	9	10	2	1	3	1	3	
ARZM03055-Cristalino amarillo anaranjado		88	90	92	94	110	114	116		76	78			156	158	160	162	
	8	4	2	1	1	10	2	7	1	10	10	10	3	2	3	1		
<b>Entrada-Raza de Formosa</b>																		
ARZM07058-Canario de Formosa						114				78				156				
	-					2	2			2	2	2	2	2				
ARZM07061-Canario de Formosa						112	114		124	76	78			156				
	-					4	1	2	1	2	1	4	4	4				
ARZM07094-Avati morotí		88	90			116	118			76	78			156	160	162		
	6	1	5			6	4	2		6	4	6	4	1	1			
ARZM07125-Dentado blanco		86	88		96	114			126	130	78			154	156	160		
	6	1	4		1	4	2		1	1	6	6	3	1	4	1		
<b>Entrada-Raza de Misiones</b>																		
ARZM05074-Venezolano		88	90	94	104	110	114	116	124	76	78			154	158	160		
	6	1	3	1	1	6	1	2	1	6	5	6	4	1	1			
ARZM05067-Avati morotí tí		88	90	92		110	114	116		76	78			156	158	160		
	10	7	2	1		10	3	2	5	10	8	10	7	1	2			
ARZM05069-Avati morotí tí		86	88	92		110	114	116		78				154	156	158	160	
	6	1	3	2		8	6	1	1	8	8	8	1	2	4	1		
ARZM05077-Avati morotí tí		88	90	92	98	104			130	76	78			156	160	162		
	6	2	1	1	1	6		4		6	5	6	2	3	1			
ARZM05118-Avati morotí tí		86	88	90	92	94	110	114	116	126	78			156	158	160		
	8	1	3	1	1	2	8	1	2	4	1	4	8	6	1	1		

N: número de alelos estudiados en cada caso.

**Tabla A9.** Alelos detectados en las entradas de razas nativas del Banco de Germoplasma.

	N	Alelos del <i>locus bnlg105</i>			N	Alelos del <i>locus 1287</i>				N	Alelos del <i>locus bnlg1732</i>			N	Alelos del <i>locus bnlg1740</i>						
<b>Entrada-Raza de Chaco</b>																					
ARZM06002-Cristalino amarillo anaranjado	72	74	78		150	152	154	156		100			116	120	124						
	6	4	1	1	6		1	2	1	2	6	6	4	2	1	1					
ARZM06050-Cristalino colorado	72				144			154	156		100	102			120	124					
	4	4			4	1			1	2	4	2	4		3	1					
ARZM06067-Avatí morotí tí	72		76	78				150	152	154			100			116	120	124			
	14	9	4	1	14			1	5	8	12	12	14	2	10	2					
ARZM06109-Avatí morotí tí			78		144	150	152	154			100				120						
	8		8		8	1		1	2	4	10	10	10		10						
ARZM06076-Dentado Blanco	72		84		144	148	150	152	154		100	102	110		120	126					
	10	7		3	10	1	2	1	2	4	10	8	1	10	7	3					
<b>Entrada-Raza de Corrientes</b>																					
ARZM04015-Avatí morotí	72				150	152	154	156		100			116	120							
	8	8			8		1	2	4	1	8	8	8	6	2						
ARZM04026-Avatí morotí		74	84		144		152	154	166		100	102			120	124	166	176			
	10	8	2		10	2		1	5	2	10	8	2	10	5	3	1	1			
ARZM04029-Avatí morotí		74	78	84				150	152	154			100			120					
	8	1	5	2	8			1	4	3	10	10	10		10						
ARZM04025-Avatí morotí		74	78	84	144	150	154				100	102			120	124					
	10	7	2	1	10	1		2	7		10	6	4	10	9	1					
ARZM04018-Camelia	72				144	150	152	154	156		100				120						
	10	10			10	2		2	3	1	2	10	10	10	10						
ARZM04060-Calchaquí	72	74			144	150	152	154			100		106	110		120					
	10	9	1		10	2		1	4	3	10	8		1	1	8					
ARZM04063-Canario de Formosa		74	78				150	152	154	156		100	102			120					
	8	7	1		8		2	2	3	1	8	7	1	8	8						
<b>Entrada-Raza de Entre Ríos</b>																					
ARZM03011-Dentado Blanco		74	78			150	152	154	168		100	102	110			120					
	10	9	1		10		4	2	3	1	10	6	3	1	10	10					
ARZM03030-Dentado Blanco		74					150	152	154	156		100	102		110		142	158	166	170	180
	10	10			10		4	1	4	1	10	7	2	1	10	4	1	1	1	2	1
ARZM03036-Calchaquí	72						150	152	154	156		100	102			118	120	124			
	8	8			8		1	3	3	1	8	6	2	8	4	2	2				
ARZM03021-Cristalino amarillo anaranjado		74	84	86	144	150	152	154	166		100	102			120						
	10	2	7	1	10	1		5	1	2	1	10	7	3	10	10					
ARZM03055-Cristalino amarillo anaranjado		74	78		144	150	152	154			100	102	110		120		182				
	10	8	2		10	3		2	2	3	10	8	1	10	9						
<b>Entrada-Raza de Formosa</b>																					
ARZM07058-Canario de Formosa	72		84			150	154				100	104			120						
	2	1	1		2		1	1			2	1	1	2	2						
ARZM07061-Canario de Formosa	72					150	152	154			100				120		166				
	4	4			4		2	1	1		4	4	4		3		1				
ARZM07094-Avatí morotí	72				144	150					100				118	120	130				
	6	6			4	1		3			6	6	6	6	2	2	2				
ARZM07125-Dentado blanco		78	84	88			150	152	154	166		100	102		110		128				
	4	2	1	1	6		3	1	1	1	6	4	2	2	1		1				
<b>Entrada-Raza de Misiones</b>																					
ARZM05074-Venezolano	72	74	78		144	150	152	154		100				120		166					
	6	4	1	1	6	2		2	1	1	6	6	6	6	5		1				
ARZM05067-Avatí morotí tí	72				144	150	152	154			100	102			116	118	124				
	10	10			10	3		1	2	4	10	9	1	8	1	2	5				
ARZM05069-Avatí morotí tí		74			144	150	152	154			100	102			120						
	6	6			8	2		3	1	2	8	9	1	8	8						
ARZM05077-Avatí morotí tí		74	78		144	152					100	102			120						
	6	4	2		6	5		1			6	6	2	4	4						
ARZM05118-Avatí morotí tí	72	74	76				150	152	154		100		104		118	120	124				
	8	1	3	4	8		3	1	4		8	5	1	8	3	4	1				

N: número de alelos estudiados en cada caso.



**Tabla A10.** Alelos detectados en las entradas de razas nativas del Banco de Germoplasma.

N		Alelos del locus <i>bnlg1070</i>										N		Alelos del locus <i>bnlg1209</i>															
<b>Entrada-Raza de Chaco</b>																													
ARZM06002-Cristalino amarillo anaranjado	212												248												174	178	186		
	4	2											2												1	2	1		
ARZM06050-Cristalino colorado			226																						172	174	178		
	2		2																						1	2	1		
ARZM06067-Avatí morotí tí	212		228										244	246	248									170	172	174	182	184	186
	12	5	1										1	4	1									2	1	3	3	2	1
ARZM06109-Avatí morotí tí			228										235		248									172	174	180			
	10		2										6		2									4	3	3			
ARZM06076-Dentado Blanco			230	232	235	240	252																166	168	170	184			
	10		1	2	4	2	1																3	1	3		1		
<b>Entrada-Raza de Corrientes</b>																													
ARZM04015-Avatí morotí			228			235	239						246										174	180	182	186			
	8		2			4	1						1										3	1	3	1			
ARZM04026-Avatí morotí			228			235							248										170	174	176	178	182		
	10		5			3							2										1	3	2	1			
ARZM04029-Avatí morotí			228										246	248									172	176	180	182			
	8		4										3	1									3	2	1	4			
ARZM04025-Avatí morotí						235		242	246	248	250											174	176	178	180	186			
	10					1		4	3	1	1											4	2	1	1	2			
ARZM04018-Camelia	212	222				239	240	246	248													172		180	182	186			
	10	1	1			2	1	4	4	1											6		2	1	1				
ARZM04060-Calchaquí			232	235	244	250	256															174	178	180	182	184	186		
	10		5	1	1	1	2						1	1	2							2	1	3	1	1	2		
ARZM04063-Canario de Formosa	222	228	230	232	235	239																168	172	176	178	186			
	8	1	1	1	1	2	2															1	4	1	1	1			
<b>Entrada-Raza de Entre Ríos</b>																													
ARZM03011-Dentado Blanco			232	233	235	239	242	246														180	182	184	186				
	10		2	1	2	2	1	2														2	5	1	2				
ARZM03030-Dentado Blanco	212	222				232		248	252												172	178	180						
	10	3	1			4		1	1												4	2	2						
ARZM03036-Calchaquí		222	228	232	235	246															166	168	172	178	180	184			
	6	1	1	2	1	1															1	1	3	1	1	1			
ARZM03021-Cristalino amarillo anaranjado						239	242	246	248												172	174	180	182					
	10					4	1	4	1												5	2	2	2					
ARZM03055-Cristalino amarillo anaranjado	222	228				239	240	244	246												166	172	174	176	178	180	184		
	10	1	8			1	2	2	1												1	3	1	1	1	2	1		
<b>Entrada-Raza de Formosa</b>																													
ARZM07058-Canario de Formosa			233			246																							
	2		1			1							1																
ARZM07061-Canario de Formosa	222	226				235																							
	4	1	1			2																							
ARZM07094-Avatí morotí			228			239	240	246	256	260																			
	6		1			1	1	1	1	1										162	170	180							
ARZM07125-Dentado blanco	212																			170	174								
	4	4																		3	1								
<b>Entrada-Raza de Misiones</b>																													
ARZM05074-Venezolano			230	235	246	248														172	174	180	182						
	6		1	2	1	2														1	3	1	1						
ARZM05067-Avatí morotí tí			228			242	248													172	174	176	178	180	184				
	10		6			2														1	1	1	5	1	1				
ARZM05069-Avatí morotí tí			228			235	240	248												172	174	176	180	182					
	8		5			1	1	1												3	1	1	1	2					
ARZM05077-Avatí morotí tí			228			235	246													172		178	180	182					
	6		3			1	2													2		2	1	1					
ARZM05118-Avatí morotí tí	228		235	242	250	254	256													170	174	180	182	184					
	8		3			1	1	1	1	1	1									2	2	1	2	1					

N: número de alelos estudiados en cada caso.

**Tabla A11.** Alelos detectados en las entradas de razas nativas del Banco de Germoplasma.

	N		Alelos del locus <i>bnlg1360</i>									
<b>Entrada-Raza de Chaco</b>												
ARZM06002-Cristalino amarillo anaranjado	4	119	123	129	131							
		1	1	1	1							
ARZM06050-Cristalino colorado	2									155		
										2		
ARZM06067-Avatí morotí tí	10							149	151		159	167 169
								3	3		1	1 1
ARZM06109-Avatí morotí tí	10	121		131	133	139	143				161	
		1		1	1	1	2				3	
ARZM06076-Dentado Blanco	6					139	143	147	149		157	
						1	1	1	1		2	
<b>Entrada-Raza de Corrientes</b>												
ARZM04015-Avatí morotí	8	115		131		139						
		6		1		1						
ARZM04026-Avatí morotí	6	113	119		131			149	151		163	
		1	3		1			3	1		1	
ARZM04029-Avatí morotí	8		121	125	129		137		149			
			1	4	1		1		1			
ARZM04025-Avatí morotí	10	115		131		139	141	145				177 181
		3		2		1	1	1				1 1
ARZM04018-Camelia	10	119		129		139		147		153	155	
		3		2		1		1		2	1	
ARZM04060-Calchaquí	8					137	139		149			
						6	1		1			
ARZM04063-Canario de Formosa	4	111	119	127		137						
		1	1	1		1						
<b>Entrada-Raza de Entre Ríos</b>												
ARZM03011-Dentado Blanco	8				133		143		151		159	
					1		2		1		4	
ARZM03030-Dentado Blanco	8	119	121	129							157	
		2	4	1							1	
ARZM03036-Calchaquí	6		123				145	149		157		179
			1				1	1		2		1
ARZM03021-Cristalino amarillo anaranjado	10	105	111	119	121	123						165
		1	1	4	1	2						1
ARZM03055-Cristalino amarillo anaranjado	6						141		151	153	159	169
							2		1	1	1	1
<b>Entrada-Raza de Formosa</b>												
ARZM07058-Canario de Formosa	2		125									
			2									
ARZM07061-Canario de Formosa	2		125									
			2									
ARZM07094-Avatí morotí	2		121									169
			1									1
ARZM07125-Dentado blanco	6						145	149	153			
							1	1	1			
<b>Entrada-Raza de Misiones</b>												
ARZM05074-Venezolano	4					139	143					
						3	1					
ARZM05067-Avatí morotí tí	8	121	125		133							
		4	3		1							
ARZM05069-Avatí morotí tí	8	121	125	131	135		143					
		1	1	3	2		1					
ARZM05077-Avatí morotí tí	4	121				139				157		
		2				1				1		
ARZM05118-Avatí morotí tí	8		123	129			143			157		
			2	3			2			1		

N: número de alelos estudiados en cada caso.

**Tabla A12.** Alelos detectados en las entradas de razas nativas del Banco de Germoplasma.

	N		Alelos del locus <i>bnlg1526</i>							
<b>Entrada-Raza de Chaco</b>										
ARZM06002-Cristalino amarillo anaranjado	102		110						120	
	4	1		1						2
ARZM06050-Cristalino colorado						114				
	4					4				
ARZM06067-Avatí morotí tí					112	114			120	
	14				2	2			10	
ARZM06109-Avatí morotí tí		104					116	118		134
	8	2					2	2		2
ARZM06076-Dentado Blanco			108	110		114			120	
	10		1	4		2			3	
<b>Entrada-Raza de Corrientes</b>										
ARZM04015-Avatí morotí					112	114	116			130
	8				1	2	3			2
ARZM04026-Avatí morotí					112				120	
	10				7				3	
ARZM04029-Avatí morotí			108	110			116	118		124
	10		4	2			2	1		1
ARZM04025-Avatí morotí			108		112				120	
	8		5		2				1	
ARZM04018-Camelia					112	114		118	120	
	8				2	1		4	1	
ARZM04060-Calchaquí			108		112			118		124
	10		6		2		1		1	
ARZM04063-Canario de Formosa					112				120	130 134
	8				2				3	1 2
<b>Entrada-Raza de Entre Ríos</b>										
ARZM03011-Dentado Blanco			108		112			118	120	
	10		1		4			4	1	
ARZM03030-Dentado Blanco					112				120	136
	10				2				7	1
ARZM03036-Calchaquí				110	112		116			
	8			1	2		5			
ARZM03021-Cristalino amarillo anaranjado			108	110	112				120	
	8		4	2	1				1	
ARZM03055-Cristalino amarillo anaranjado		104			112	114			120 122	134
	10	1			4	2			1 1	1
<b>Entrada-Raza de Formosa</b>										
ARZM07058-Canario de Formosa								118		
	2							2		
ARZM07061-Canario de Formosa					112		116		120	
	4				1		1		2	
ARZM07094-Avatí morotí								118	120	
	4							3	1	
ARZM07125-Dentado blanco					112		116			
	4				2		2			
<b>Entrada-Raza de Misiones</b>										
ARZM05074-Venezolano					112	114				
	4				1	3				
ARZM05067-Avatí morotí tí					112	114			120 122	
	10				1	2			5 2	
ARZM05069-Avatí morotí tí									120 124	
	8								7 1	
ARZM05077-Avatí morotí tí				110					120 122 124 128	
	6			2					1 1 1 1	
ARZM05118-Avatí morotí tí			108		112				120 122	130
	6		1		1				1 2	1

N: número de alelos estudiados en cada caso.

**Distancia geográfica entre aldeas****Tabla A30.** Distancia geográfica (km) entre los sitios de colección (aldeas) de las poblaciones de Misiones.

	<b>Alecrín</b>	<b>Guavirá Poty</b>	<b>Piñalito</b>	<b>Mado Delicia</b>	<b>Pozo Azul</b>
<b>Alecrín</b>	-	21,19	21,71	53,48	15
<b>Guavirá Poty</b>		-	34,67	57,29	32,73
<b>Piñalito</b>			-	74,67	32,40
<b>Mado Delicia</b>				-	43,08
<b>Pozo azul</b>					-