



Por un Desarrollo Agrario
Integral y Sostenible"

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE AGRONOMIA

Trabajo de Tesis

**Caracterización molecular de 25 accesiones de maíz
blanco (*Zea mays* L.) provenientes de nueve
departamentos de Nicaragua, 2019-2021**

Autor

Br. Miriam Janeth Soza Sevilla

Asesores

M.Sc. Donald Alonso Juárez Gámez

Dr. Víctor Manuel Aguilar Bustamante

Managua, Nicaragua

Mayo, 2022



Por un Desarrollo Agrario
Integral y Sostenible"

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE AGRONOMIA

Trabajo de Tesis

**Caracterización molecular de 25 accesiones de maíz
blanco (*Zea mays* L.) provenientes de nueve
departamentos de Nicaragua, 2019-2021**

Autor

Br. Miriam Janeth Soza Sevilla

Asesores

M.Sc. Donald Alonso Juárez Gámez

Dr. Víctor Manuel Aguilar Bustamante

Presentado a la consideración del honorable comité
evaluador como requisito final para optar al grado de
Ingeniero Agrónomo

Managua, Nicaragua
Mayo, 2022

Hoja de aprobación del Comité Evaluador

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable comité evaluador designado por la decanatura de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria como requisito final para optar al grado profesional de:

Ingeniero Agrónomo

Miembros del Honorable Comité evaluador

Dr. Oscar Gómez Gutiérrez

Presidente

MSc. Rosario García Loáisiga

Secretario

MSc. Marbell Aguilar Maradiaga

Vocal

Por un Desarrollo Agrario
Integral y Sostenible

Lugar y fecha: Managua, Nicaragua. 24 Mayo del 2022.

DEDICATORIA

A DIOS por regalarme sabiduría e inteligencia para lograr uno de mis grandes sueños en mi vida, culminar mi carrera.

A mi madre, Miriam Sevilla Raudez, a ella que siempre me dio palabras de aliento, amor y ternura a ella que en momentos difíciles de mi vida me motivó a salir adelante inculcándome valores, gracias mamá por ser tan buena y aconsejarme día a día. Demostrándome que en la vida uno debe ser valiente, tener espíritu de superación y vencer todo obstáculo que se atravesase para cumplir mis metas.

A mi padre, Orlando José Soza Miranda “Papá, lo logré”.

A mí hija Alexa Fernanda Fuentes Soza, por ser la persona de inspiración y dedicación para llegar a ser una profesional.

A mi familia que de infinitas formas me apoyaron.

A mis amig@s y amistades porque de ellos nunca faltó el apoyo o palabras de aliento.

“Todo lo puedo en Cristo que me fortalece.”

Filipenses: 4. 13

Br. Miriam Janeth Soza Sevilla

AGRADECIMIENTO

Quiero darle las gracias a DIOS principalmente por ser la base de este trabajo y fuente de mis fuerzas para salir adelante, y a cada una de las personas a quien está dedicado este trabajo.

A mis padres y familiares por brindarme su apoyo desde el principio de la carrera.

A mi pequeña princesita Alexa Fernanda Fuentes Soza por ser mi inspiración y por soportar parte del sacrificio para que siguiera adelante, cuando me encontraba en momentos difíciles, todo esto me inspiró y permitió que pusiera mi mayor esfuerzo para poder culminar mi carrera.

A mis asesores M.Sc. Donald Alonso Juárez Gámez, Dr. Víctor Manuel Aguilar Bustamante y tutor@s M.Sc. Andrea María Zamora, M.Sc. Arlen Tijerino López e Ing. Samuel Alfonso Baca Suárez; por guiarme y darme su apoyo incondicional en la realización de este trabajo de tesis.

A mis amig@s y amistades por aconsejarme y brindarme su apoyo cuando lo necesitaba ya que cuando realizas un trabajo una pequeña palabra de aliento te da fuerza para seguir adelante.

A los miembros de la junta directiva que hicieron posible que fuera apadrinada para culminar esta carrera y llevar a cabo la realización de dicho trabajo.

A todos los docentes del Departamento de la Facultad de Agronomía, por su aporte en mi preparación durante los cinco años de estudio.

Al INTA por haber brindado el apoyo científico-técnico y económico para la realización de este trabajo investigativo.

Br. Miriam Janeth Soza Sevilla

ÍNDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
ÍDICE DE ANEXOS	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo general	3
2.2 Objetivos específicos	3
III. MARCO DE REFERENCIA	4
3.1 Generalidades del maíz en el mundo y en Nicaragua	4
3.1.1 Taxonomía del maíz	4
3.1.2 Zonas de cultivo del maíz en Nicaragua	5
3.1.3 Adaptabilidad del maíz en respuesta a la variabilidad climática	5
3.2 La agrobiotecnología aplicada al mejoramiento genético del maíz	6
3.2.1 Tipos de marcadores moleculares y su uso en el mejoramiento genético del maíz	6
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	8
4.1 Ubicación del estudio	8
4.2 Diseño metodológico	8
4.2.1 Material genético	8

4.2.2	Material vegetal	9
4.2.3	Extracción y verificación de la calidad del ADN	10
4.2.4	Amplificación del ADN mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)	11
4.2.5	Visualización de los fragmentos o electroforesis	12
4.2.6	Determinación del tamaño de los fragmentos	13
4.3	Análisis de los datos	13
4.3.1	Número de alelos por locus y departamentos	13
4.3.2	Heterocigosidad esperada	13
4.3.3	Heterocigosidad observada	14
4.3.4	Estimación de la frecuencia alélica por locus y departamento	14
4.4	Análisis de la estructura genética	14
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
5.1	Diversidad genética	15
5.1.1	Número de alelos por locus	15
5.1.2	Heterocigosis observada y esperada	17
5.1.3	Diversidad alélica por departamentos	18
5.1.4	Frecuencia alélica en las accesiones por locus y departamentos	19
5.2	Análisis de la estructura genética	20
5.2.1	Análisis molecular de varianza	20
5.2.2	Relaciones filogenéticas entre las accesiones	22
VI.	CONCLUSIONES	24
VII.	RECOMENDACIONES	25
VIII.	LITERATURA CITADA	26
IX.	ANEXOS	30

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
1. Procedencia de 25 accesiones de maíz blanco utilizadas en la caracterización molecular usando 10 marcadores microsatélites tipo (SSR)	8
2. Descripción de los 10 marcadores microsatélites (SSR) utilizados en la caracterización molecular de 25 accesiones de maíz blanco	11
3. Programa PCR general utilizado en la amplificación de los fragmentos de interés del ADN de 25 accesiones de maíz	12
4. Parámetros de la estructura genética generada por diez marcadores microsatélites tipo (SSR) en la evaluación molecular de 25 accesiones de maíz blanco	17
5. Diversidad alélica por departamento conforme al número de alelos amplificados en 25 accesiones de maíz blanco de Nicaragua	18
6. Análisis molecular de varianza de 25 accesiones de maíz blanco de Nicaragua	22

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
1. Frecuencia alélica de los diferentes alelos presentes en las 25 accesiones de maíz blanco según su procedencia	20
2. Dendrograma de similitud y diferencia de 25 accesiones de maíz blanco	23

ÍDICE DE ANEXOS

ANEXO	PÁGINA
1. Calidad del ADN genómico visualizado en gel de agarosa al 0.8 %	30
2. Programas de amplificación del AND para cada marcador	30
3. Regla de ADN de 100 a 1000 pares de bases utilizada para la amplificación de marcadores BNLG y PHI	31
4. Regla de ADN de 50 a 1000 pares de bases utilizada para la amplificación del marcador NC013	32
5. Número de alelos totales encontrados en 25 accesiones de maíz blanco utilizando 10 marcadores microsatélites	33
6. Abreviaturas	34
7. Glosario	34

RESUMEN

En Nicaragua el maíz (*Zea mays* L.) es un cultivo de importancia agrícola y es el cereal con más alto nivel de industrialización y consumo, considerado una alternativa para la seguridad alimentaria y nutricional. El presente estudio se realizó en el laboratorio de Agrobiotecnología del INTA entre agosto del 2019 a diciembre del 2021, con el objetivo de caracterizar molecularmente 25 accesiones de maíz blanco provenientes de nueve departamentos de Nicaragua. Los parámetros de diversidad genética, el Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) y el índice de fijación (F_{ST}) de cada población fueron calculados mediante el software para análisis de datos genéticos de poblaciones Arlequín versión 3.5.2.2. El análisis de frecuencias alélicas de cada marcador se realizó con el software GenePop versión 4.7.5. Finalmente, usando la distancia genética se construyó un dendrograma utilizando el método UPGMA mediante el programa MEGA versión 11. Se identificaron 166 alelos totales y un promedio de 17 alelos para cada marcador. Se identificaron 53 alelos únicos, como futuros indicadores en procesos de selección individual. De los diez marcadores usados, seis demostraron ser polimórficos. Según el análisis de diversidad alélica por departamento, Estelí y Chinandega resultaron ser más diversas para todos los marcadores mientras, Nueva Segovia mostró la menor diversidad alélica. El cálculo de las frecuencias alélicas determinó que Estelí y Chinandega obtuvieron los mayores valores para todos los marcadores. El AMOVA demostró que la mayor diversidad genética se encontró dentro de las poblaciones con 67.25 %, considerándose como un parámetro importante en las estrategias de conservación *ex situ*. Finalmente, el análisis de relación filogenética basado en las distancias calculadas y en la procedencia de las accesiones formó ocho grupos, demostrando así la riqueza genética del género *Zea* en Nicaragua para la generación de nuevas tecnologías altamente productivas.

Palabras clave: Dendrograma, índice de fijación, frecuencia alélica, diversidad genética.

ABSTRACT

In Nicaragua, maize (*Zea mays* L.) is a crop of agricultural importance and is the cereal with the highest level of industrialization and consumption, considered an alternative for food and nutritional security. This study was carried out in the Agrobiotechnology laboratory of INTA between August 2019 and December 2021, with the aim of molecularly characterizing 25 accessions of white corn from nine departments of Nicaragua. The parameters of genetic diversity, the Molecular Analysis of Variance (AMOVA) and the fixation index (FST) of each population were calculated using the software for analysis of genetic data of Arlequin population's version 3.5.2.2. The analysis of allelic frequencies of each marker was performed with the GenePop software version 4.7.5. Finally, using the genetic distance, a dendrogram was constructed using the UPGMA method by the means of MEGA program version 11. We identified 166 total alleles and an average of 17 alleles for each marker. 53 unique alleles were identified as future indicators in individual selection processes. Of the ten markers used, six proved to be polymorphic. According to the analysis of allelic diversity by department, Estelí and Chinandega turned out to be more diverse for all markers while Nueva Segovia showed the less allelic diversity. The calculation of the allelic frequencies determined that Estelí and Chinandega obtained the highest values for all markers. The AMOVA showed that the greatest genetic diversity was found within the populations with 67.25 %, being considered as an important parameter in *ex situ* conservation strategies. Finally, the analysis of phylogenetic relationship based on the calculated distances and the origin of the accessions formed eight groups, thus demonstrating the genetic richness of the *Zea* genus in Nicaragua for the generation of new highly productive technologies.

Keywords: Dendrogram, fixation index, allelic frequency, genetic diversity.

I. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es una planta originaria y domesticada por los pueblos indígenas en Mesoamérica desde hace unos diez mil años (Kato et al., 2009). Según los indicios arqueológicos señalan que el maíz fue introducido a Nicaragua por los mexicanos con la migración del cacique Nicarao en los siglos XIII y XIV (Revista Magazine, 2018).

El maíz es uno de los cultivos más importantes del mundo y es el cereal con más alto nivel de industrialización y consumo. Se ha determinado que la alimentación a base de maíz es considerada una alternativa para mejorar la seguridad alimentaria y nutricional. Según el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP, 2020).

En Nicaragua la producción del maíz es “realizada por pequeños y medianos productores y está destinada principalmente al consumo familiar, al comercio local o consumo interno”, así que este grano básico es considerado el cultivo de mayor importancia ya que contribuye con la energía dietética de la población nicaragüense. De acuerdo al Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA, 2009, p. 25).

Según los datos de Food News Latam (FNL, 2020) los países con mayor producción de este grano básico a nivel mundial son: Estados Unidos con 347,488,000 t, China con 254,000,000 t y Brasil con 101,000,000 t. A nivel de Centroamérica son: Guatemala con 1,680,000 t, El Salvador con 830,000 t y Honduras con: 520,000 t respectivamente. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2020) Nicaragua ocupa el último lugar en rendimientos muy por debajo de los otros países Centroamericanos con una producción de 430,000 t, en un área sembrada de 291,440 ha⁻¹, obteniendo un aproximado de 1.47 t/ha⁻¹.

En Nicaragua la producción del maíz tiene como base el uso de semillas adaptadas, esta práctica ancestral ha ayudado a la conservación *in situ* de este valioso recurso genético y ha llegado a ser una estrategia de trabajo amparada en políticas públicas donde se prioriza su fomento, conservación y utilización en programas de mejoramiento genético (FAO, 2021).

El maíz adaptado cuenta con mayores ventajas que el maíz mejorado, por ser un cultivo rústico que requiere de bajo nivel de insumos como fertilizantes y pesticidas, sin embargo, se destaca que las semillas adaptadas poseen un desempeño de producción muy bajo comparado

al de variedades mejoradas, las cuales expresan su potencial productivo cuando están en condiciones similar al de los campos experimentales donde fueron desarrolladas. No obstante, la adaptabilidad de estos últimos a las condiciones variables del medio ambiente en la actualidad, es limitada comparada con la que muestran las semillas adaptadas (INIFAP, 2000).

Las semillas adaptadas de maíz poseen comportamiento agronómico con alta capacidad de adaptarse a las condiciones ambientales actuales a causa de la alta variación intra-poblacional que existe entre ellas, es decir son portadores de genes que se pueden aprovechar con fines de mejoramiento genético para la generación de variedades más productivas y con capacidad de adaptarse a condiciones climáticas específicas o propias de una localidad (Melesio, 2017, párr. 1-3).

A pesar que gran parte de la producción nacional se realiza con semillas adaptadas, existe poca información científica referente al comportamiento agronómico de estos materiales. Si bien existe una gran diversidad genética novedosa del maíz en Nicaragua, hasta el momento existen pocos estudios que analicen aspectos de diversidad genética, principalmente utilizando marcadores moleculares para comprender la constitución genética e incrementar el limitado uso de los maíces adaptados en programas activos de mejoramiento genético.

Dicho lo anterior, la presente investigación surge como resultado del trabajo del Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA) relacionado a coleccionar, caracterizar, resguardar y utilizar los recursos fitogenéticos de las especies de mayor interés económico para el país según lo estipulado en el Capítulo III, Título 10, Párrafo 513, Inciso d, del Plan Nacional de Desarrollo Humano (PNDH, 2012, p. 112).

Por lo tanto, se pretende aportar información genética del maíz mediante la caracterización molecular de accesiones adaptadas de maíz blanco. A la vez los resultados servirán como insumo para la construcción de núcleos de diversidad genética usándolos como herramienta en la toma de decisiones para la conservación del germoplasma y su utilización en programas de mejoramiento genético, para enfrentar los nuevos retos de la agricultura bajo las condiciones actuales de variabilidad climática, logrando mantener o aumentar la producción del maíz a nivel nacional y aportar a la sostenibilidad de la seguridad alimenticia y nutricional.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Caracterizar a nivel molecular 25 accesiones de maíz blanco (*Zea mays* L.) provenientes de nueve departamentos de Nicaragua, mediante el empleo de marcadores moleculares microsatélites (SSR).

2.2 Objetivos específicos

- i. Determinar parámetros de diversidad genética en 25 accesiones de maíz blanco utilizando diez marcadores moleculares tipo microsatélites (SSR).
- ii. Estimar las relaciones y estructura genética de 25 accesiones de maíz blanco.
- iii. Identificar el nivel de polimorfismo de diez marcadores microsatélites (SSR) en 25 accesiones de maíz blanco.

III. MARCO DE REFERENCIA

3.1 Generalidades del maíz en el mundo y en Nicaragua

Ribeiro (2004) dice que:

El maíz es el logro agronómico más importante de la historia de la humanidad, de un simple "pasto" (el teocintle) los pueblos campesinos indígenas de Mesoamérica crearon una planta con gran valor nutricional, de enorme versatilidad para su cultivo en muchos ecosistemas diferentes y para multiplicidad de usos. No se reproduce en forma silvestre, es un cultivo ligado para siempre a sus creadores a los que según los mitos fundantes de las culturas mesoamericanas, también creó, en un camino de cuidados recíprocos (Sección los pueblos del maíz, párr. 1).

De todos los cereales existentes el maíz, es el más importante del mundo, debido a que actualmente existe una tendencia creciente por la diversificación en su uso, suministra elementos nutritivos a los seres humanos, a los animales y es una materia prima básica de la industria, se utiliza para la producción de almidón, glucosa, dextrosa, fructosa, aceites, botanas y etanol y otros productos utilizados como materia prima en las industrias minera, textil, electrónica, farmacéutica y alimentaria, Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios (ASCDMA, 2018, párr. 1).

3.1.1 Taxonomía del maíz

Según datos de García et al. (2017) la taxonomía del maíz es la siguiente:

Reino: Plantae

Clase: Angiospermae

Subclase: Commelinidae

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Género: *Zea*

Especie: *mays*

3.1.2 Zonas de cultivo del maíz en Nicaragua

Según lo estipulado en el Plan Nacional de Producción, Consumo y Comercio (PNPCC, 2021) el maíz se cultiva prácticamente en todo el territorio nacional, actividad realizada por los pequeños y medianos productores:

En el ciclo 2020-2021, se cosecharon 8.18 millones quintales [\equiv 409 000 t] (-7.2 % respecto al ciclo anterior), abasteciendo el consumo aparente nacional de 8.15 millones de quintales [\equiv 407 500 t], con exportaciones de 0.023 millones de quintales [\equiv 1 150 t], equivalente a US \$ 0.2 millones. Para el ciclo 2021-2022 se proyecta una recuperación de 3.4 %, equivalente a 8.45 millones de quintales [\equiv 422 500 t], con un consumo aparente de 8.4 millones de quintales [\equiv 420 000 t] y exportaciones de 0.03 millones de quintales [\equiv 1 500 t] por US \$ 0.2 millones (pp. 38-39).

Según el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG, 2022) los tres departamentos de mayor producción de maíz de acuerdo al registro de los productores y área total a nivel nacional son los siguientes: Jinotega, registra un total de productores del 16.2 % con área del 18.2 % del área total a nivel nacional; la Región Autónoma de la Costa Caribe reporta para la RACCS un total de productores del 11.6 % con un área del 13.9 % del área total a nivel nacional y la RACCN registra un total de productores del 9.2 % representando el 13.7 % del área total a nivel nacional.

3.1.3 Adaptabilidad del maíz en repuesta a la variabilidad climática

El maíz a pesar de haberse originado y evolucionado en zonas tropicales es una planta de excelente productividad por ser capaz de adaptarse a la variabilidad climática. “Este cultivo se desarrolla en una amplia gama de ambientes, Esto lo expone a condiciones muy variables de temperatura y oferta de recursos” (Cirilo, 2010, párr. 1). Es una planta dotada de una amplia capacidad de respuesta a las oportunidades que le ofrece el medio ambiente, actualmente,

existen diversidad de cultivares útiles para su cultivo bajo condiciones naturales muy distintas de las propias de su hábitat original (Melesio, 2017, párr. 1-3).

3.2 La agrobiotecnología aplicada al mejoramiento genético del maíz

El mejoramiento genético de maíz se puede definir como la aplicación de técnicas, componentes o sistemas biológicos para la obtención de bienes y servicios de este cultivo. Esto significa que desde hace miles de años, la humanidad ha venido realizando agrobiotecnología, de un modo empírico, sin bases científicas, esta práctica se ha realizado por los agricultores a través de selección, al elegir sus semillas con las características de mayor productividad para la siembra del año siguiente (Iáñez, 2005).

El Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA, 2008) menciona que en estos últimos años la población ha aumentado de forma significativa por lo tanto:

En la actualidad las tecnologías tradicionales no serán suficientes para garantizar la producción de alimentos que el crecimiento poblacional demanda. El desafío tecnológico consiste en aumentar la productividad agrícola, sin destruir la base de los recursos naturales de una localidad y sin aumentar en forma drástica la frontera agrícola. Las nuevas tecnologías, incluida la agrobiotecnología, constituyen un medio para aumentar la productividad agrícola y garantizar así la disponibilidad de alimentos para satisfacer las demandas actuales que se estiman para el futuro cercano (p.11).

Los recursos genéticos son la base para el desarrollo de las biotecnologías modernas, ya que muchos de los beneficios se derivan de la utilización de estos recursos. Además, son la fuente de genes que se utilizan en los procesos de transformación genética, que son la base de los avances que se han logrado en esta área en los últimos años (p.12).

3.2.1 Tipos de marcadores moleculares y su uso en el mejoramiento genético del maíz

Existe una serie de técnicas moleculares empleadas para la caracterización y mejoramiento de los cultivos entre ellos el maíz, dentro de estas está el uso de marcadores moleculares que han sido bastante explotados según las ventajas y objetivos de cada estudio. Entre los tipos de marcadores más utilizados se destacan los siguientes: RFLP (Fragmentos de Restricción de

Longitud Polimórfica), AFLP (Polimorfismo en la Longitud de los Fragmentos Amplificados), SSRs (Secuencia Simple Repetida), RAPD (Amplificación Aleatoria de ADN Polimórfico), SNPs (Polimorfismo de Nucleótidos Únicos) y los ISSR (Inter Secuencia Simple Repetida) o intermicrosatélites (Becerra y Paredes, 2000).

Tomando en cuenta que el estudio se realizó empleando marcadores microsatélites tipo SSR (Simple Séquense Repeats) la descripción de estos consiste en ser pequeñas secuencias de 2 a 5 pares de bases repetidas. Estas regiones pueden ser amplificadas mediante la técnica PCR (Polimerase Chain Reaction) que utiliza secuencias específicas que reconocen a las regiones flanqueantes, los SSR tienen expresión co-dominante y son multialélicos, por lo que poseen el más elevado nivel de polimorfismo, otra ventaja de los SSR es que son muy frecuentes y están distribuidos al azar en todo el genoma del maíz (Becerra y Paredes, 2000).

El IICA (2008) señala que:

La tecnología de marcadores moleculares permite apoyar y acelerar la selección del fitomejoramiento convencional. Se trata de un método sumamente útil para identificar la base genética de las características que tengan potencial para el mejoramiento agrícola y se utiliza para trazar mapas con el fin de localizar genes particulares que determinan características beneficiosas (p.11).

Mediante la utilización de marcadores moleculares se han elaborado mapas genéticos sumamente detallados para el cultivo de maíz. Los marcadores, que resultan particularmente útiles para analizar la influencia de características complejas como la productividad de las plantas y la tolerancia a condiciones climáticas, actualmente se utilizan para desarrollar variedades con características deseables, logrando una aceleración en su producción por unidad de tiempo (p.11).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Ubicación del estudio

El estudio se realizó en el laboratorio de agrobiotecnología del Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA), localizado en el Centro Nacional de Investigación Agropecuaria (CNIA) ubicado en el municipio de Managua, km 14 ½ carretera norte 2 km al sur, con las siguientes coordenadas geográficas: latitud norte 12° 07' 55" y longitud oeste 86° 08' 55" a una altitud de 70 msnm. Según datos del Instituto Nicaragüense de Estudios Territoriales (INETER, 2018). La investigación se realizó desde agosto del 2019 a diciembre del 2021.

4.2 Diseño metodológico

4.2.1 Material genético

El material genético utilizado en el estudio consistió de 25 accesiones de maíz blanco (*Zea mays* L.) provenientes de nueve departamentos de Nicaragua, colectadas por el INTA y resguardadas en el Banco Nacional de Germoplasma ubicado en el Centro Nacional de Investigación Agropecuaria (Cuadro 1).

Las accesiones fueron seleccionadas considerando cuatro parámetros: a) que el porcentaje de germinación fuera superior al 70 %, por ser este el valor mínimo requerido para su conservación en el banco de germoplasma, b) que el grano fuera de color blanco por ser de mayor importancia económica en el país c) que la procedencia de las accesiones fuera de los departamentos donde la producción de maíz ha sido histórica y d) por atributos productivos por los que los productores usan estas variedades.

Cuadro 1. Procedencia de 25 accesiones de maíz blanco utilizadas en la caracterización molecular usando 10 marcadores microsatélites tipo (SSR)

Código de las accesiones	Nombre local	Procedencias (Departamento)	Coordenadas
0041	Olote rojo	Estelí-Condega	057°97'47"-147°95'45"
0102	Olotillo blanco	Jinotega-La Concordia	059°13'26"-140°64'61"
0116	Olotillo	Jinotega-Wiwilí	062°87'33"-151°24'80"
0182	Olotillo blanco	Granada-Nandaime	059°88'53"-129°51'46"

Cuadro 1. Continuación...

Código de las accesiones	Nombre local	Procedencias (Departamento)	Coordenadas
0184	Olote rosado	Carazo-Santa Teresa	059°30'35"-130°28'90"
0185	Olote rosado	Carazo-Santa Teresa	059°28'21"-130°37'91"
0188	Olotillo blanco	Granada-Nandaime	059°80'65"-129°42'69"
0189	Olote rosado	Carazo-Santa Teresa	059°18'38"-130°27'34"
0233	Pujagua	Nueva Segovia-Macuelizo	058°03'87"-150°03'16"
0339	Quebrachito	Estelí-Pueblo Nuevo	050°03'27"-147°51'60"
0341	Olotillo blanco	Matagalpa-Esquipulas	057°79'37"-148°53'00"
0342	Maicillo pujagua	Matagalpa-San Isidro	058°12'00"-141°58'89"
0344	Olote rosado	Estelí- San Juan de Limay	054°64'51"-146°27'89"
0346	Olotillo	Estelí- San Juan de Limay	054°12'30"-145°03'57"
0347	Olotillo	Estelí-San Juan de Limay	054°42'73"-145°46'94"
0353	Cuarenteño-viejano	Chinandega-Somotillo	051°21'74"-144°69'65"
0355	Zolután	Chinandega-Cinco Pinos	051°24'78"-146°05'83"
0357	Maizón	Granada-Nandaime	060°12'61"-128°87'46"
0358	Rocamel	Nueva Guinea-Nueva Guinea	078°59'70"-129°54'77"
0359	Olotillo	Nueva Guinea-Nueva Guinea	078°61'30"-129°53'90"
0504	Elotillo rosado	Chinandega-Puerto Morazán	047°22'58"-141°51'95"
0505	Elotillo blanco	Chinandega-Puerto Morazán	047°22'58"-141°51'95"
0511	Maicillo blanco	León-León	052°34'78"-140°06'70"
0512	Olotillo blanco	León-León	052°34'78"-140°06'70"
0515	Zolután olote rojo	Chinandega-Somotillo	051°74'08"-144°02'13"

4.2.2 Material vegetal

El material vegetal de cada accesión de maíz blanco se obtuvo mediante el establecimiento de 100 semillas en bandejas para su germinación, usando arena estéril como sustrato (INTA, 2013, pp. 20-23).

Después de ocho días de establecidas las semillas, se seleccionaron 15 individuos por cada accesión de forma aleatoria y de cada uno de ellos se seleccionaron hojas jóvenes de las cuales se extrajo un segmento para la utilización en la extracción del ADN genómico.

4.2.3 Extracción y verificación de la calidad del ADN

La extracción del ADN genómico se realizó mediante la metodología propuesta por Jiménez (2009) la cual es detallada a continuación:

De cada individuo se tomó una muestra de tejido vegetal equivalente a 15 mg que fueron depositados en tubos tipo eppendorf de 1.5 ml. Seguidamente se agregó 200 μ l de buffer de extracción (conteniendo 100 mM Tris-HCl, 50 mM EDTA, 500 mM NaCl y 20 mM 2-mercaptoethanol). El tejido fue macerado utilizando pistilos plásticos estériles hasta homogenizar las muestras. Luego, fueron agregados y mezclados 26 μ l de sulfato dodecil sódico al 10 %.

Las muestras se colocaron en una incubadora tipo baño maría a 65 °C por 10 minutos y se agitaron al menos tres veces en ese intervalo de tiempo. Posteriormente, se agregaron 112 μ l de acetato de potasio (3 M) a cada tubo y se incubaron en hielo por 20 minutos. Luego, las muestras se centrifugaron a máxima velocidad (~18,000 xg) a 5 °C por 15 minutos. El sobre-nadante se extrajo y se colocó en un tubo nuevo para agregar 0.6 volúmenes de 2-propanol helado.

Posteriormente las muestras se incubaron a -20 °C por 20 minutos. Después, las muestras se centrifugaron nuevamente a máxima velocidad (~18,000 xg) a 5 °C por 15 minutos. Finalizada la centrifugación se extrajo el 2-propanol de los tubos seguidamente los tubos de ADN fueron lavados en 100 μ l de etanol (70 %) tres veces a máxima velocidad (~18,000 xg) a 5 °C por 5 minutos. Luego, los tubos de ADN genómico fueron secados a temperatura ambiente y diluidos en 100 μ l de buffer TE (conteniendo 10 mM Tris-HCl pH 8.0 y 1 mM EDTA). Finalmente, las muestras de ADN se conservaron a -20 °C para su posterior utilización en la técnica PCR (p. 19).

Para verificar la efectividad de la extracción del ADN se preparó un gel de agarosa simple al 0.8 %, diluida en tampón TBE 0.5X (Tris-Borato EDTA) y teñida con 4 μ l de bromuro de

etidio. Se depositaron 10 µl de ADN genómico combinado con 2 µl de búfer de carga 6x en cada pocillo del gel. Se dejó correr en la cámara electroforesis durante 45 minutos a 70 voltios y 330 amperios. Transcurrido el tiempo se utilizó un transiluminador (High Performance UV Transilluminator UVP) con una cámara Canon integrada para tomar las fotografías, las cuales fueron visualizadas utilizando el software para análisis de imágenes Doc-ITLS y lograr así la identificación de las bandas de ADN (Anexo 1).

4.2.4 Amplificación del ADN mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Para la amplificación de los fragmentos de ADN de interés se utilizaron un total de 10 marcadores microsátélites tipo SSR que han sido validados para maíz y que se encuentran distribuidos en todos los cromosomas de esta especie (Cuadro 2). Los marcadores se seleccionaron basados en el amplio polimorfismo que mostraron en estudios realizados en maíz de México, Cuba, Colombia, Pakistán, Brasil, China, Serbia y en híbridos de maíz pujagua de Nicaragua analizados por Lacayo y Ponce (2018, p. 12).

Cuadro 2. Descripción de los diez marcadores microsátélites (SSR) utilizados en la caracterización molecular de 25 accesiones de maíz blanco

Primer ó locus	Cr	Secuencia 5' a 3' Forward	Secuencia 3' a 5' Reverse	Ta °C
BNLG1272	2	ACCGAAGATGAGGTGTGACA	TCAGTGCAAGGGCAATTTAG	52
BNLG127	9	CATGTATACGAGAAGCACCTAT	ATCGTAACTCAGCGTTTTGTG	49
BNLG400	1	AGCTGTGACTGTGAAGGGAAAA	CGTCACACCGCTGTTTGTG	52
BNLG197	3	GCGAGAAGAAAGCGAGCAGA	CGCCAAGAAGAAACACATCACA	59
NC013	4	AATGGTTTTGAGGATGCCGTGG	CCCCGTGATTCCCTTCAACTTTC	51
PHI063	10	GGCGGCGGTGCTGGTAG	CAGCTAGCCGCTAGATATACGCT	53
PHI112	7	TGCCCTGCAGGTTACATTGAGT	AGGAGTACGCTTGGATGCTCTTC	53
PHI96100	2	AGGAGGACCCCAACTCCTG	TTGCACGAGCCATCGTAT	53
PHI119	8	GGGCTCCAGTTTTTCAGTCATTGG	ATCTTTCGTGCGGAGGAATGGTCA	52
PHI057	7	CTCATCAGTGCCGTCGTCCAT	CAGTCGCAAGAAACCGTTGCC	52

Cromosoma (Cr), Temperatura de alineamiento (Ta), Brookhaven National Laboratory of Genetic (BNLG), North Carolina (NC) y Pioneer High Bred (PHI).

La amplificación de los fragmentos de ADN de interés se realizó en una máquina PCR Eppendorf Mastercycler pro S. La mezcla PCR estuvo compuesta por 25 µl de solución total

para cada muestra, conteniendo los siguientes elementos: 12.5 µl de Thermo Scientific Dream Taq Green PCR Master Mix (2X) K1081 (Dream Taq ADN polimerase, 2X Dream Taq Green buffer, 0.4 mM de cada nucleótido: dATP, dCTP, dGTP and dTTP, y 4 mM MgCl₂), 1 µl del marcador forward, 1 µl del marcador reverse, 9.5 µl de agua libre de nucleasas y 1 µl de ADN genómico.

Se utilizó el siguiente programa general PCR para la amplificación de los fragmentos de interés de ADN, el cual varió dependiendo del marcador usado (Cuadro 3). En el anexo 2 se detalla el programa de amplificación para cada marcador.

Cuadro 3. Programa PCR general utilizado en la amplificación de los fragmentos de interés del ADN de 25 accesiones de maíz

Ciclos	Etapas	Temperatura	Tiempo
	Desnaturalización	94 °C	4 min
	Desnaturalización	94 °C	45 s
30	Alineación	56 °C	45 s
	Elongación	72 °C	1 min
	Elongación final	72 °C	10 min

4.2.5 Visualización de los fragmentos o electroforesis

Una vez culminado el proceso de amplificación se procedió a correr el ADN en geles de agarosa al 2 % sobre una solución de TBE 0.5X y teñidas con 4 µl de Bromuro de Etidio. En el gel se marcaron 20 pocillos o wells utilizando una peineta plástica de aproximadamente 20 cm y una distancia entre cada pocillo de 1 cm.

En cada pocillo del gel se depositaron 20 µl del producto PCR resultante de la amplificación, mezclado con 4 µl de buffer de carga o 6x loading para teñir el ADN. Asimismo, en cada extremo de las geles se colocó una regla molecular de diez bandas con fragmentos de tamaño que van de 100 hasta 1000 pb para los marcadores BNLG y PHI (Anexo 3). El marcador NC013 fue medido con una regla molecular de trece bandas de 50 hasta 1000 pb (Anexo 4).

La electroforesis se realizó en una cámara Thermo Scientific Easy Cast Owl B2 usando 90 voltios, 330 amperios durante 120 minutos. Transcurrido el tiempo de la electroforesis se

procedió a colocar el gel de agarosa en el transiluminador, desde donde se obtuvo la fotografía del gel con los fragmentos amplificados según los marcadores usados.

4.2.6 Determinación del tamaño de los fragmentos

El tamaño de los fragmentos se calculó utilizando el software Alpha View versión 3.5.0 (2019). Tomando como referencia el tamaño de los fragmentos de las reglas moleculares utilizadas. Con los datos se construyó una base de datos en el programa Microsoft Excel (2013).

4.3 Análisis de los datos

Los parámetros de diversidad genética calculados en las 25 accesiones de maíces blancos en base a los 10 microsatélites (SSR) utilizados fueron los siguientes: número de alelos por locus y departamento, heterocigosis observada y heterocigosis esperada (H_{obs} y H_{esp}) y número de alelos únicos identificados por locus.

4.3.1 Número de alelos por locus y departamentos

Según Casalla (2003) “un alelo constituye las formas alternativas que puede presentar un gen en un locus. Se determina por conteo directo de alelos diferentes para cada locus en cada población” (p. 21). Todos los valores fueron calculados mediante el software para análisis de datos genéticos de poblaciones Arlequín versión 3.5.2.2 (Excoffier & Lischer, 2015). La diversidad alélica por departamento se calculó agrupando el total de alelos amplificados por cada marcador en las 25 accesiones y se estimó su proporción en base al número total de alelos identificados por departamento (Anexo 5).

4.3.2 Heterocigosidad esperada

Es llamada también índice de diversidad de Weir y “estima la proporción de individuos que se espera sean heterocigotos para cada locus en un grupo” (Casalla, 2003, p. 22). Se calculó mediante el software para análisis de datos genéticos de poblaciones Arlequín versión 3.5.2.2 (Excoffier & Lischer, 2015).

4.3.3 Heterocigosidad observada

La heterocigosidad observada “equivale a la proporción de individuos que presentan un par de alelos diferentes, es decir que son heterocigotos, mediante conteo directo para cada locus en un grupo” (Casalla, 2003, p. 22). Esta variable se calculó mediante el software para análisis de datos genéticos de poblaciones Arlequín versión 3.5.2.2 (Excoffier & Lischer, 2015).

4.3.4 Estimación de la frecuencia alélica por locus y departamento

La frecuencia alélica se define como “el número de veces que se observa un alelo dentro del total de alelos para un locus en una población. Es usada para describir toda la información genética presente en un locus” (Casalla, 2003, p. 22). Se realizó el análisis de frecuencias alélicas de cada marcador utilizando el software para análisis de datos genéticos de poblaciones GenePop versión 4.7.5 (Rousset, 2008). La frecuencia alélica por departamento se calculó sumando la frecuencia de cada alelo en las accesiones provenientes de un mismo departamento.

4.4 Análisis de la estructura genética

Para determinar la proporción de la variación genética atribuible a la variación dentro de las poblaciones o entre las poblaciones se efectuó un Análisis Molecular de Varianza (AMOVA). Asimismo, mediante el cálculo del índice de fijación (F_{ST}) de cada accesión se generó una matriz de comparación de distancias genéticas entre las accesiones. Todos los valores fueron calculados mediante el software para análisis de datos genéticos de poblaciones Arlequín versión 3.5.2.2 (Excoffier & Lischer, 2015).

Usando la matriz de distancias genéticas fue posible construir un dendrograma para las diferentes accesiones, utilizando el método de agrupamiento jerárquico UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean). Este análisis permite representar gráficamente las similitudes y diferencias entre las accesiones, para lo cual se empleó el programa MEGA versión 11 (Tamura et al., 2021).

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Diversidad genética

5.1.1 Número de alelos por locus

Se compararon 375 individuos correspondientes a las 25 accesiones de maíz, utilizando 10 marcadores moleculares microsatélites, en los cuales se identificó un total de 166 alelos para los marcadores estudiados, con un promedio de 17 alelos en las accesiones evaluadas. De los 10 marcadores seis demostraron ser altamente polimórficos, amplificando de 3-30 alelos para los diez pares de cromosomas de esta especie. El marcador PHI063 amplificó 30 alelos, seguido de los marcadores BNLG1272, BNLG127 y el BNLG197 con 23 alelos cada uno. En contraste, el marcador PHI112 fue el que menos alelos amplificó, alcanzando un total de 3 alelos (Cuadro 4).

Al medir el tamaño de los fragmentos se logró estimar que el de mayor tamaño fue de 250-398 pb, obtenido por el marcador PHI96100 y el de menor longitud fue de 86-190 pb, amplificado por el marcador NC013.

Considerando que el material genético utilizado en el estudio correspondía a accesiones de maíz adaptado en Nicaragua, se logró obtener un total de 53 alelos. Indicando así su utilidad para la identificación molecular de posibles variedades, líneas o híbridos que resulten del uso de este material genético en programas de mejoramiento genético (Cuadro 4).

Guido (2018) reporta en su estudio de caracterización genética de 19 poblaciones de maíz criollo y cinco variedades comerciales de Costa Rica, 55 alelos amplificados y un promedio de 4.6 alelos por locus, mostrando así menor riqueza genética que la detallada en éste estudio (p. 84). Por otro lado, Silviaet al. (2014) al analizar 86 accesiones de maíz criollo ecuatorianos usando nueve marcadores microsatélites encontró un total de 72 alelos con un promedio de 8 alelos por locus estudiado (pp. 2-4).

Otro estudio similar es el reportado por Jiménez (2014) quién utilizando 10 microsatélites estudió molecularmente 165 accesiones criollas, de las cuales 62 provenían del CIMMYT y

103 eran nativas de Colombia. En este estudio se identificaron 47 alelos totales, con un promedio de 4.7 alelos por locus y una variación de 3-7 alelos (pp. 12-19).

Al considerar los resultados de los estudios antes mencionados, la riqueza genética del maíz nicaragüense es superior, posiblemente debido a que la selección de estas accesiones tuvo como criterio nueve departamentos de procedencia, por lo tanto, es factible asumir que el intercambio de germoplasma entre productores no afectó los resultados de los índices de diversidad estimados o como posiblemente ocurre en otros estudios que las accesiones poseen un origen geográfico en común.

Los resultados de este trabajo revelan que la diversidad del maíz adaptado en Nicaragua es muy amplia cuando es comparada con la diversidad reportada en la investigación realizada en Bulgaria por Kostova et al. (2006), donde se analizaron molecularmente con 18 microsatélites la diversidad de 41 variedades endogámicas de maíz de la colección de germoplasma Búlgaro con 10 variedades endogámicas de maíz de Estados Unidos. En dicho estudio se reportan 163 alelos totales, con un promedio de 9.1 alelos por locus (pp. 32-33).

En contraste a estos resultados Reif et al. (2006) al estudiar la diversidad genética en 25 poblaciones de maíz criollo de México usando 25 microsatélites, reportan un total de 196 alelos (pp. 178-179). Similarmente, Carvajal (2018) reportó un total de 361 alelos al caracterizar con 20 microsatélites 20 accesiones de maíz criollo pertenecientes a Costa Rica (pp. 15-33).

Probablemente, las diferencias en la diversidad reportada por los estudios anteriores pueden atribuirse al uso de un mayor número de individuos por cada población estudiada y al mayor número de marcadores utilizados.

Cuadro 4. Parámetros de la estructura genética generada por diez marcadores microsatélites tipo (SSR) en la evaluación molecular de 25 accesiones de maíz blanco

Locus ó primer	Tamaño (pb)	Na	H_{obs}	H_{esp}	Alelos únicos
BNLG1272	212-300	23	0.22	0.82	3
BNLG127	226-330	23	0.16	0.60	4
BNLG400	98-126	5	0.00	0.03	0
BNLG197	90-250	23	0.07	0.32	8
NC013	86-190	22	0.32	0.52	6
PHI063	138-260	30	0.55	0.61	13
PHI112	166-170	3	0.00	0.02	0
PHI96100	250-398	19	0.52	0.71	8
PHI119	172-194	9	0.00	0.03	6
PHI057	166-190	9	0.00	0.03	5
Media		17	0.18	0.37	5
Desviación estándar		9	0.22	0.32	

Tamaño en pares de bases (pb) de los fragmentos amplificados por cada microsatélite, Na (Número de alelos encontrados), H_{obs} (Heterocigosis observada), H_{esp} (Heterocigosis esperada).

5.1.2 Heterocigosis observada y esperada

La heterocigosis representa una medición de la variación genética y se clasifica en observada y esperada (H_{obs} y H_{esp}). La heterocigosis observada es la frecuencia relativa de individuos heterocigotos en las accesiones para cualquiera de los marcadores, mientras que la esperada o diversidad genética media expresa la probabilidad de que dos alelos tomados al azar de las accesiones sean diferentes.

Cuando la H_{obs} y H_{esp} fueron contrastadas, fue evidente que los valores de la heterocigosis observada (H_{obs}) para todas las accesiones fueron bajos, presentando un valor promedio de 0.18 y variando desde 0 como mínimo a 0.55 como máximo, este último obtenido por el marcador PHI063. Bajo este contexto, se puede decir que la mayor variación genética (H_{esp}) fue de 0.82, obtenida por el marcador BNLG1272 mientras que, el marcador PHI112 registró el menor grado de variación genética con rango de 0.02 en las 25 poblaciones estudiadas y un promedio de 0.37 (Cuadro 4).

Los valores de heterocigosidad encontrados en este estudio son menores al compararlo con lo reportado por Guido (2018) quien describe valores de heterocigosidad observada de 0.24 y heterocigosidad esperada de 0.60 (p. 87). Del mismo modo (Carvajal, 2018; Jiménez, 2014; Silvia et al., 2014) demuestran superioridad en los datos para la heterocigosidad observada y esperada.

5.1.3 Diversidad alélica por departamentos

En relación al departamento de mayor diversidad conforme el número de alelos amplificados, Estelí y Chinandega resultaron ser los más diversos para todos los marcadores. Así, Estelí obtuvo un rango de alelos de 0.8 con el marcador PHI112 a 5.1 con el marcador NC013 y Chinandega obtuvo un rango de 0.6 para el marcador PHI112 a 4.9 con el marcador BNLG1272. En cambio, Nueva Segovia fue el departamento de menor diversidad alélica por presentar rangos de 0.1 alelos con el marcador PHI112 a 1.4 alelos encontrados con el marcador BNLG127 (Cuadro 5).

Este resultado se debe posiblemente a que para los departamentos de Estelí y Chinandega se analizaron cinco accesiones, mientras que para Nueva Segovia solo se analizó una accesión.

Cuadro 5. Diversidad alélica por departamento conforme al número de alelos amplificados en 25 accesiones de maíz blanco de Nicaragua

Locus o primer	Esteli	Carazo	Granada	Chinandega	Jinotega	León	Matagalpa	Nueva Segovia	Nueva Guinea	Suma total	Comparación
BNLG1272	4.8	2.7	2.7	4.9	1.9	1.7	1.6	0.9	1.9	23	
BNLG127	4.1	2.4	3.9	4.1	2.7	1.4	1.7	1.4	1.4	23	
BNLG400	1.4	0.5	0.5	0.9	0.4	0.4	0.4	0.2	0.4	5	
BNLG197	4.4	4.7	3.0	4.7	0.8	1.9	0.6	0.3	2.5	23	
NC013	5.1	2.2	1.2	4.7	2.4	2.0	1.8	1.2	1.6	22	
PHI063	4.8	2.9	6.5	3.9	1.2	2.9	1.9	1.2	4.6	30	
PHI112	0.8	0.3	0.3	0.6	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	3	
PHI96100	4.0	2.5	1.9	3.4	1.6	1.2	1.9	0.6	1.9	19	
PHI119	3.4	0.8	0.8	1.4	0.6	0.6	0.6	0.3	0.6	9	
PHI057	3.4	0.8	0.8	1.4	0.6	0.6	0.6	0.3	0.6	9	

5.1.4 Frecuencia alélica en las accesiones por locus y departamentos

La frecuencia con la que se presentaron los diferentes alelos en las accesiones de maíz según el análisis molecular con 10 marcadores microsatélites, estuvo en concordancia con el número de alelos amplificados en cada accesión estudiada por departamentos. Bajo esa premisa, se puede afirmar según los resultados obtenidos, que Estelí y Chinandega fueron los dos departamentos donde hubo mayor frecuencia alélica para todos los marcadores.

Como se ha dicho, Estelí mantuvo frecuencias alélicas de 4.697 con el marcador PHI96100 hasta 6.0 con el marcador BNLG197. De modo similar, las accesiones procedentes de Chinandega presentaron una frecuencia alélica de 4.7 con el marcador PHI96100 hasta 5.0 con los marcadores BNLG400, BNLG197, PHI063, PHI112, PHI119 y PHI057. El departamento de menor frecuencia alélica fue Nueva Segovia, ésta presentó valores que oscilan desde 0.999 para tres marcadores (BNLG1272, NC013 y PHI96100) hasta 1.001 con el marcador PHI063. Los departamentos de Jinotega, León, Matagalpa y Nueva Guinea presentaron valores similares, con índices de frecuencias entre 1.799 a 2.099 (Figura 1).

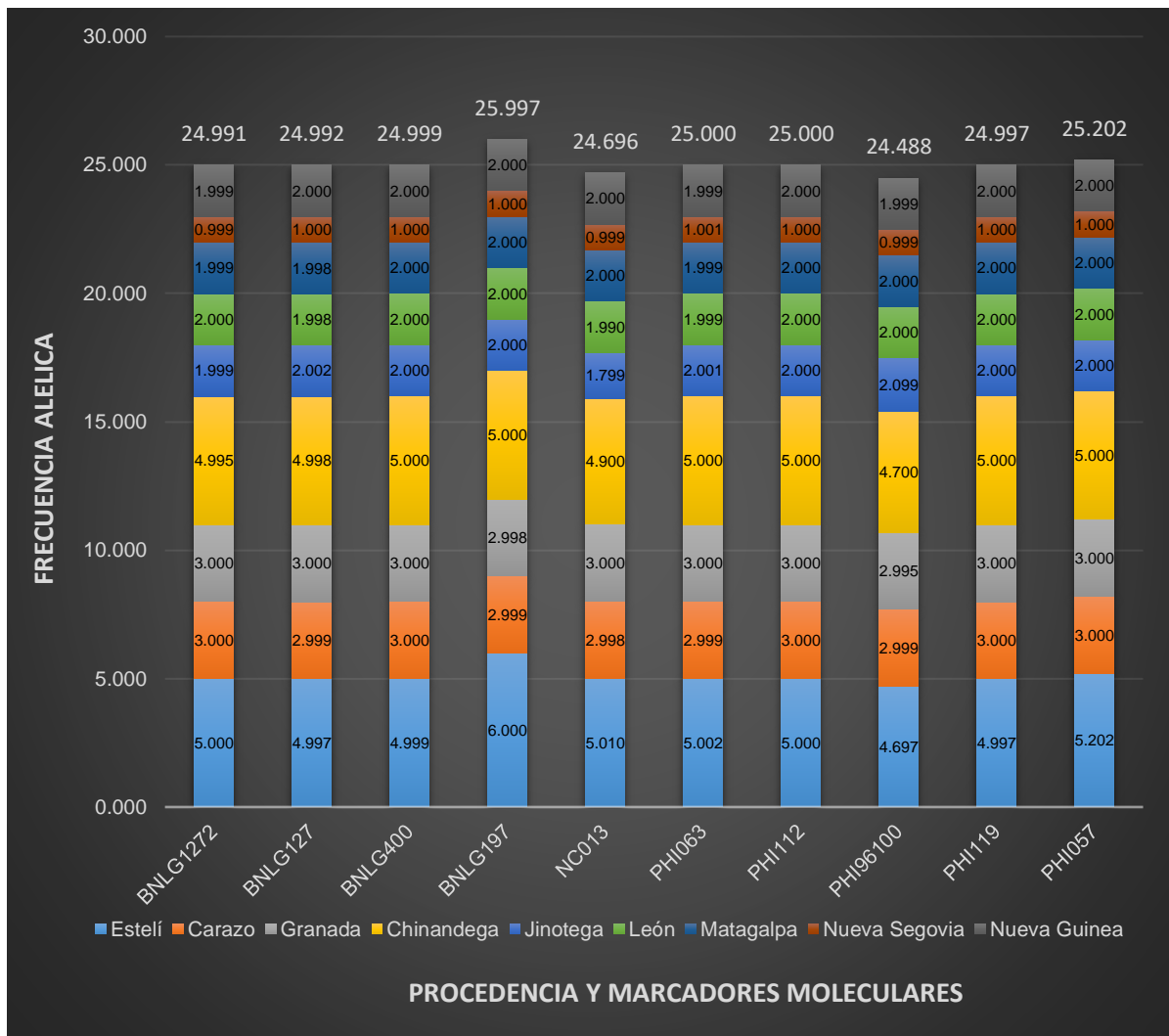


Figura 1. Frecuencia alélica de los diferentes alelos presentes en las 25 accesiones de maíz blanco según su procedencia.

5.2 Análisis de la estructura genética

5.2.1 Análisis molecular de varianza

El Análisis Molecular de Varianza (AMOVA), muestra cuanta de la diversidad molecular encontrada entre los individuos analizados se encuentra entre las accesiones o dentro de ellas. En otras palabras, muestra si las accesiones son genéticamente diferentes entre ellas o no.

El AMOVA indicó que el 67.25 % de la variación genética según datos de polimorfismo reside dentro de las poblaciones mientras, el 32.75 % se encuentra entre ellas, confirmando así que entre menos diferentes sean las poblaciones entre ellas, mayor será la divergencia genética

entre sus individuos o viceversa. Asimismo, se confirmó la significancia genética encontrada entre y dentro de las poblaciones, debido a que la probabilidad calculada fue menor del 5 %, con un resultado dentro de población de 1.72 y entre población 0.84. Resaltando así la significancia del F_{ST} obtenido, con un total de 0.33 (Cuadro 6).

De acuerdo a lo planteado por Eguiarte et al. (2010) el índice de fijación o F_{ST} “permite medir la reducción en la heterocigosis, debido a la diferenciación genética entre poblaciones” (p. 6). Este resultado muestra una gran variabilidad genética que se puede explorar ampliamente, por el contrario, la menor variación genética detectada entre las accesiones, puede deberse a la selección que realizan los agricultores, la cual promueve el aislamiento mediante variaciones en la respuesta fenológica de la misma a ciertas condiciones topográficas y climáticas de las zonas.

Nowosad et al. (2017), al estudiar 13 cultivares de maíz con 30 SSR determinó que el 90.2 % de la variación encontrada se localizó dentro de las poblaciones y entre poblaciones obtuvieron 9.8 % (pp. 139-140). Al igual lo reporta Aparecido & Romero (2000) en el estudio de 18 variedades de maíz en Brasil (incluidas 5 genotipos indígenas usando 14 microsatélites) demostraron que el 83 % de la variación estaba dentro de las poblaciones (p. 376).

Caso contrario se plantea por Guido (2018) encontrando que el 59 % de la variabilidad observada en las accesiones se obtuvo entre individuos y el 27 % dentro de los individuos (p. 115).

Considerando el resultado del AMOVA, se puede sugerir como estrategia para la conservación a mediano y largo plazo de estas 25 accesiones de maíz y el resto de accesiones del Banco Nacional de Germoplasma del INTA, que se realice un incremento en el tamaño de las muestras de las semillas permitiendo así, incrementar las frecuencias alélicas que fluyen en las población y que seguramente le confieren a estas accesiones atributos importantes para la adaptación productiva en los actuales escenarios medioambientales.

Cuadro 6. Análisis molecular de varianza de 25 accesiones de maíz blanco de Nicaragua

Fuente	GL	SC	CM	Var. Est.	% Variación
Entre poblaciones	24	646.14	26.92	0.84	32.75
Dentro de poblaciones	725	1 250.17	1.72	1.72	67.25
Total	749	1 896.30		2.56	

F_{ST} 0.33

Grados de Libertad (GL), Suma de Cuadrados (SC), Cuadrado Medio (CM), Variación Estándar (Var. Est.), probabilidad de significancia al 5 % ($P \leq 0.05$).

5.2.2 Relaciones filogenéticas entre las accesiones

Al realizar la representación gráfica de las accesiones utilizando las distancias genéticas para averiguar cuál de ellas eran similar o diferentes y así construir un núcleo de diversidad genética se logro construir un dendrograma, donde claramente se observan 8 grupos bien definidos (Figura 2).

El grupo I lo forma la accesión Olotillo proveniente de Estelí (0347), grupo II corresponde a la accesión Olotillo con procedencia de Estelí (0346), el grupo III constituido por la accesión Olote rosado originaria de Carazo (0189), al grupo IV lo forman las accesiones Elotillo rosado (0504) y Rocamel (0358) colectadas en Chinandega y Nueva Guinea, el grupo V corresponde a la accesión Zolután olote rojo colectado en Chinandega (0515), el grupo VI corresponde a las accesiones Maicillo blanco (0511) y Pujagua (0223) con procedencia de León y Nueva Segovia.

El grupo VII lo forman ocho accesiones: Maizón (0357), Maicillo pujagua (0342), Quebrachito (0339), Olote rosado (0185), Olotillo blanco (0188), Olotillo blanco (0102), Olotillo blanco (0182) y Olote rosado (0184) procedentes de Granada, Matagalpa, Estelí, Carazo y Jinotega. Finalmente, el grupo VIII conformado por nueve accesiones (Cuarenteño-viejano (0353), Olote rosado (0344), Zolután (0355), Olotillo blanco (0341), Olote rojo (0041), Olotillo blanco (0512), Olotillo (0359), Elotillo blanco (0505) y Olotillo (0116). Este grupo fue el más variable en cuanto a procedencia por agrupar accesiones de seis departamentos (Chinandega, Estelí, Matagalpa, León, Nueva Segovia, y Jinotega).

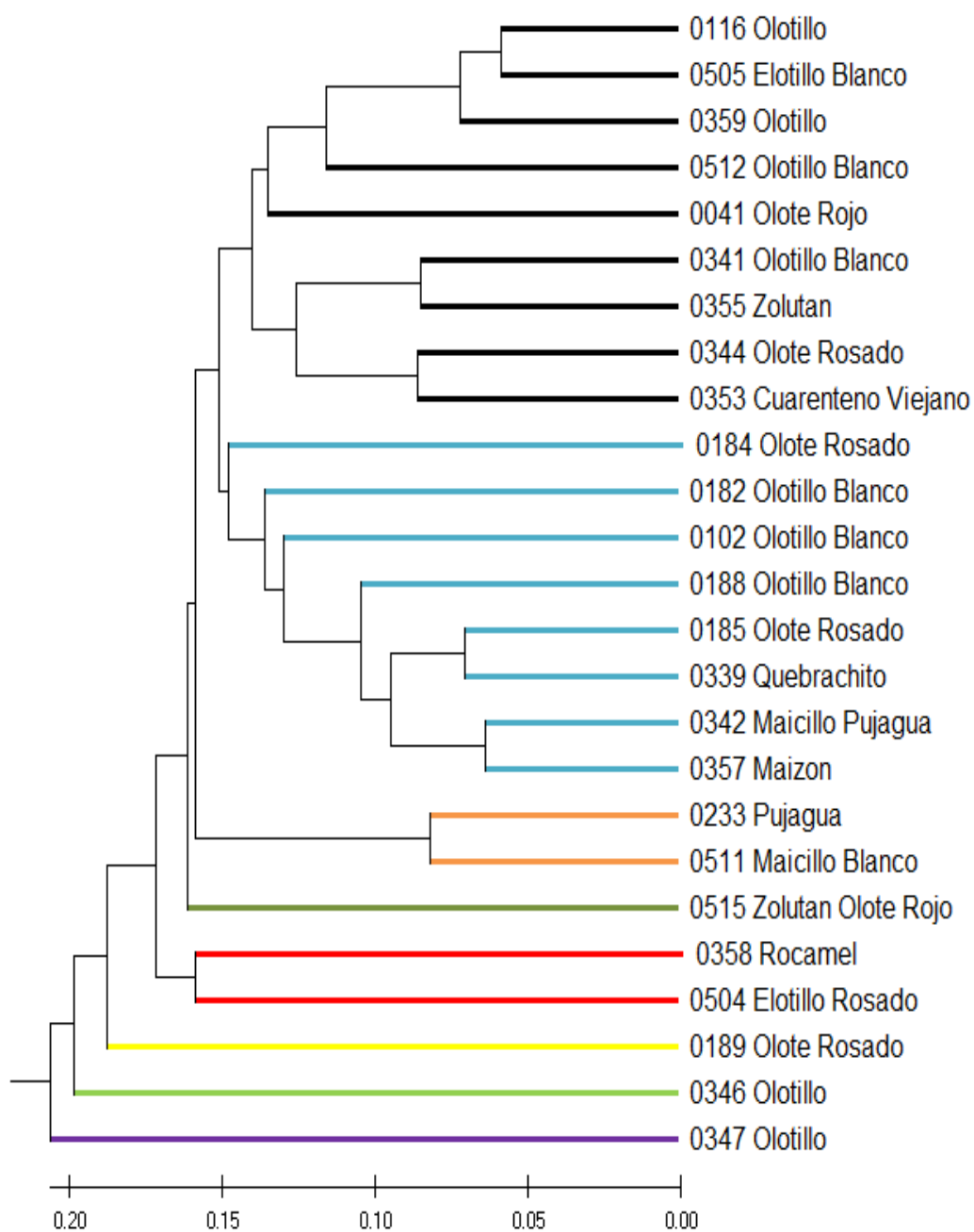


Figura 2. Dendrograma de similitudes y diferencias de 25 accesiones de maíz blanco.

VI. CONCLUSIONES

Al comparar 375 individuos correspondientes a las 25 accesiones de maíz, utilizando 10 marcadores microsatélites, se identificaron 166 alelos, con un promedio de 17 alelos y un número de alelos únicos equivalente a 53. Al medir el tamaño de los fragmentos se logró estimar que el de mayor tamaño fue de 250-398 pb, obtenido por el marcador PHI96100 y el de menor longitud fue el NC013 con 86-190 pb.

En la representación gráfica de las relaciones genéticas entre las accesiones se observan ocho grupos bien definidos.

De los diez microsatélites SSR, seis demostraron ser altamente informativos en la detección de alelos. El marcador PHI063 resultó ser el más polimórfico amplificando 30 alelos, seguidos del BNLG1272, BNLG127 y el BNLG197 con 23 alelos cada uno, el marcador NC013 amplificó 22 alelos y por último el PHI96100 con 19 alelos los cuales se pueden emplear para análisis rutinarios en las accesiones de maíz.

La mayor diversidad genética se encontró dentro de las poblaciones con un 67.25 %, existiendo más variación dentro de ellas que entre ellas.

VII. RECOMENDACIONES

Utilizar en futuras investigaciones de diversidad genética los marcadores moleculares PHI063, BNLG1272, BNLG127, BNLG197, NC013 y PHI96100; ya que mostraron los mejores resultados en cuanto a polimorfismo.

Continuar realizando estudios de diversidad genética con accesiones que conforman la colección del Banco Nacional de Germoplasma para obtener mayor información de la constitución genética del maíz conservado.

Relacionar las caracterizaciones genotípicas con evaluaciones fenotípicas para un mejor aprovechamiento de la diversidad genética encontrada en este estudio, permitiendo identificar germoplasma con potencial productivo para la creación de nuevas tecnologías.

Realizar un incremento en el tamaño de muestras de semilla de las accesiones en el BNG para capturar mayor diversidad entre poblaciones.

Promover los vínculos de investigación conjunta entre Universidades y el INTA para fortalecer la formación técnico científico de los estudiantes.

VIII. LITERATURA CITADA

- Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios. (2018). *Maíz grano cultivo representativo de México: Alimento, forraje y materia prima para la industria*. Recuperado de: <https://www.gob.mx/aserca/articulos/maiz-grano-cultivo-representativo-de-mexico?idiom=es>
- Alpha View. (2019). *Protein simple* (Versión 3.5.0) [Software]. Bio-technie. Recuperado de: <http://www.proteinsimple.com/alphaview/downloads/>
- Aparecido, M. & Romero, C. (2000). *Isoenzymatic variation in the germplasm of Brazilian races of maize*. Genetic and Molecular Biology. Sociedade Brasileira de Genética. Recuperado de: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=1415-4757&script=sci_serial
- Becerra, V. y Paredes, M. (2000). *Uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética*. Agricultura Técnica, (V.60). Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072000000300007>.
- Carvajal, S. (2018). *Caracterización de la diversidad genética de maíz criollo (Zea mays L.) de las regiones Brunca y Chorotega*. [Tesis de graduación para optar por el grado de licenciatura en biología molecular y biotecnología, Universidad de Costa Rica]. Recuperado de: <repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/xmlui/handle/123456789/5598>
- Casalla, R. (2003). *Medición de la distancia genética en grupos de camarón blanco Liptopenaeus vannamei en la costa ecuatoriana*. [Tesis de maestría, Escuela Superior Politécnica del litoral, facultad de ingeniería marítima y ciencias del mar]. Recuperado de: <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/8664>
- Cirilo, A. (2010). *El cultivo de maíz y su respuesta al ambiente: mejorando el rinde, manejando el riesgo*. INTA pergamino. Recuperado de: www.maizar.org.ar/vertex.php?id=460
- Eguiarte, L., Aguirre, E., Scheinvar, E., González, A. y Souza, V. (2010). *Flujo genético, diferenciación y estructura genética de las poblaciones, con ejemplos en especies de plantas mexicanas*. Laboratorio de Evolución Molecular y Experimento, Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado de: <https://www.academia.edu/34503432>
- Excoffier, L. & Lischer, L. (2015). *Arlequin suite* (Versión 3.5.2.2) [Software]. Molecular Ecology. Recuperado de: https://www.cmpg.iee.unibe.ch/about_us/team/researchers/prof_dr
- Food News Latam. (2020). *Producción Mundial de Maíz*. Recuperado de: <https://www.foodnewslatam.com/sectores/36-cereales-panaderia/9203>
- García, M., Polo, E., Fajardo, V., Salas, L., Avendaño, K., y Caballero, B. (2017). *Taxonomía en plantas*. [Del grado 9º, de la Escuela Normal Superior, San Pedro Alejandrino].

Blogpot. Recuperado de: taxonomía en plantas: maíz (taxonomiaenplantas2017.blogspot.com)

Guido, B. (2018). *Diversidad genética del maíz criollo y su conservación in situ en huertos familiares de la Zona Norte de Costa Rica*. [Tesis de postgrado, universidad Nacional de Costa Rica]. Recuperado de: <https://repositorio.una.ac.cr/bitstream/handle/11056/14858/TFG>

Iáñez, E. (2005). *Introducción a la biotecnología*. Instituto de biotecnología. [Tesis de postgrado, Universidad de Granada]. Recuperado de: <http://www.ugr.es/~eianez/Biotecnologia/introbiotec.htm#01>

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. (2020). *El maíz, base en la seguridad alimentaria del mundo: Agricultura*. Blog. Recuperado de: www.gob.mx/inifap/articulos/el-maiz-base-en-la-seguridad-alimentaria-del-mundo

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. (2000). *Maíz criollo frente a híbridos*. Recuperado de: <https://www.hortalizas.com/.../maiz-criollo-frente-a-hibrido>

Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. (2008). *Agrobiotecnología en América Latina y el Caribe: estado actual de su desarrollo y adopción*. San José, costa Rica. Recuperado de: <https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/19403/BVE31187008652e.pdf?sequence=1&isAllowed>

Instituto Nicaragüense de Estudios Territoriales. (2018). *Datos meteorológicos y geográficos*. Recuperado de: <https://servmet.ineter.gob.ni/Meteorologia/climadenicaragua.php>

Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria. (2009). *Guía tecnológica, cultivo del maíz*. Recuperado de: <https://idoc.pub/documents/guia-de-maiz-klzz8oqkzglg>

Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria. (2013). *Manual práctico para el manejo de germoplasma de granos básicos*. Recuperado de: <https://es.scribd.com/.../374335960/Manual-de-Manejo-de-Germoplasma-2013>

Jiménez, J. (2014). *Caracterización de las razas criollas e indígenas de maíz Colombiano por medio de marcadores moleculares SSR*. [Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Colombia]. Recuperado de: <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/53904/1116236879.pdf?sequence=1>

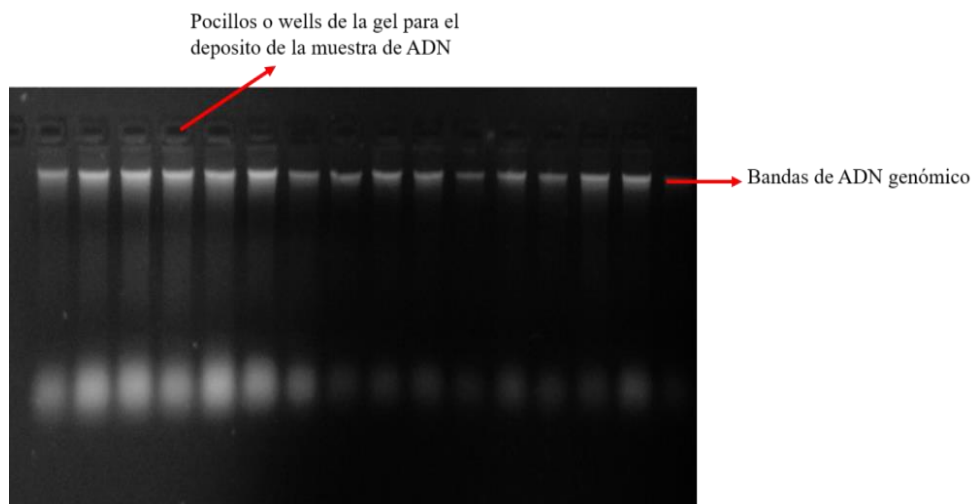
Jiménez, O. (2009). *Genetic purity of the common bean (Phaseolus vulgaris L. cv. INTA ROJO') during seed production in Nicaragua*. [Master's Thesis, University of Helsinki]. Recuperado de: <https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/14805/OswaltJimenezThesisbeans.pdf?sequence=1>

- Kato, A., Mapes, C., Mera, M., Serratos, A. y Bye, A. (2009). *Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica*. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Primera Edición. Recuperado de: https://www.academia.edu/29619915/Origen_y_diversificación_del_maíz
- Kostova, A., Todorovska, E., Christov, N., Sevov, V. & Atanassov, A. (2006). *Molecular Characterization of Bulgarian maize germplasm collection via SSR markers*. Agro Bio Institute, Sofia, Bulgaria. Recuperado de: <https://www.researchgate.net/publication/202168533>
- Lacayo, J. y Ponce, M. (2018). *Evaluación molecular de tres generaciones; G0, G2, G3, del maíz criollo pujagua rojo, utilizando 15 cebadores microsatelitales tipo SSR*. [Trabajo de tesis, Universidad Nacional Agraria]. Recuperado de: <https://repositorio.una.edu.ni/id/eprint/3747>
- Melesio, L. (20 de febrero 2017). *Maíz criollo revela sus secretos de adaptación*. Recuperado de: <https://www.scidev.net//america-latina/news/maiz-criollo-va-revelando-sus-secretos-de-adaptacion>
- Microsoft Office Excel. (2013). *Office professional*. [Software]. Recuperado de: <https://www.microsoft.com/.../previous-versions/microsoft-excel-2013>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2022). *Dirección General de Monitoreo y Seguimiento a la Producción Agropecuaria*. Recuperado de: <https://www.mag.gob.ni>
- Nowosad, K., Bocianowski, J. & Szulc, P. (2017). *Analysis of molecular variance and genetic similarity*. Department of Genetics, Plant Breeding and Seed Production, Wrocław University of Environmental and Life Sciences. Recuperado de: [https://pta.up.poznan.pl/pdf/2017/FA_34\(4\)_2017_Nowosad.pdf](https://pta.up.poznan.pl/pdf/2017/FA_34(4)_2017_Nowosad.pdf)
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2021). *El Mundo Indígena*. Recuperado de: <https://www.academia.edu/49274148/>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2020). *El reto de tener un Sistema Nacional de Semillas funcional para el incremento de la productividad en la agricultura de Nicaragua*. Recuperado de: <https://www.fao.org/nicaragua/noticias/detail-events/ru/c/1297237>
- Plan Nacional de Producción, Consumo y Comercio. (2021). *Sistema Nacional de Producción, Consumo y Comercio*. Recuperado de: https://www.tortillaconsal.com/plan_nacional_de_produccion_20
- Plan Nacional de Desarrollo Humano. (2012). *A seguir transformando Nicaragua: Versión preliminar en consulta nacional*. Recuperado de: https://siteal.iiep.unesco.org/.../siteal_nicaragua_0029.pdf

- Reif, C., Warburton, L., Xia, C., Hoisington, A., Crossa, J., Taba, S. & Melchinger, E. (2006). *Grouping of accessions of Mexican races of maíz resivited With SSR markers. Theoretical and Applied Genetics*. Institute of Plant Breeding, Seed Science, and Population Genetics, University of Hohenheim. Recuperado de: <http://doi.org/10.1007/s00122-006-0283-5>
- Revista Magazine. (2018). *Maíz, el alimento de los dioses*. Magazine. La Prensa Nicaragua. Recuperado de: www.laprensa.com.ni/magazine/reportaje/maiz-el-alimento-de-los-dioses
- Ribeiro, S. (2004). *El día en que muera el sol*. Revista Biodiversidad .Recuperado de: <https://grain.org/article/entries/1008-el-dia-en-que-muera-el-sol.pdf>
- Rousset, F. (2008). *A complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux*. (Genepop'007) [software]. Recuperado de: <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x>
- Silvia, M., Yáñez, C., Morillo, E., Proaño, K. y Taípe, M. (2014). *Caracterización molecular de las razas canguil tusilla y mezclas de maíz del banco de trabajo del programa de maíz del INIAP*. Laboratorio de biotecnología vegetal, Universidad de las fuerza armadas. Recuperado de: <https://repositorio.iniap.gob.ec/jspui/handle/41000/903?mode=simple>
- Tamura, K., Steacher, G. & Kumar, S. (2021). *Molecular Evolutionary Genetics Analysis*. (Versión 11). Molecular Biology and Evolution. Recuperado de: <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>

IX. ANEXOS

Anexo 1. Calidad del ADN genómico visualizado en gel de agarosa al 0.8 %



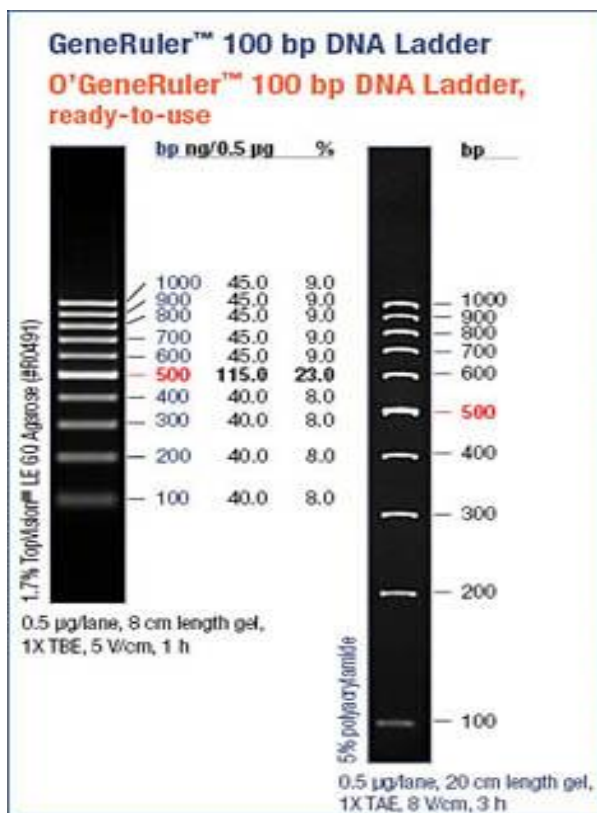
Anexo 2. Programas de amplificación del AND para cada marcador

Marcador BNLG1272	Programa	Marcador PHI063	Programa
	95 °C - 3 minutos		95 °C - 3 minutos
	95 °C - 30 segundos		95 °C - 30 segundos
	52 °C - 30 segundos -40x		53 °C - 30 segundos -35x
	72 °C - 1 minutos		72 °C - 1 minutos
	72 °C - 10 minutos		72 °C - 10 minutos
	-4 °C		-4 °C
Marcador BNLG127	Programa	Marcador PHI112	Programa
	95 °C - 3 minutos		95 °C - 3 minutos
	95 °C - 30 segundos		95 °C - 30 segundos
	49 °C - 30 segundos -35x		53 °C - 30 segundos -35x
	72 °C - 1 minutos		72 °C - 1 minutos
	72 °C - 10 minutos		72 °C - 10 minutos
	-4 °C		-4 °C
Marcador BNLG400	Programa	Marcador PHI96100	Programa
	95 °C - 3 minutos		95 °C - 3 minutos
	95 °C - 30 segundos		95 °C - 30 segundos
	52 °C - 30 segundos -40x		53 °C - 30 segundos -40x
	72 °C - 1 minutos		72 °C - 1 minutos
	72 °C - 10 minutos		72 °C - 10 minutos
	-4 °C		-4 °C

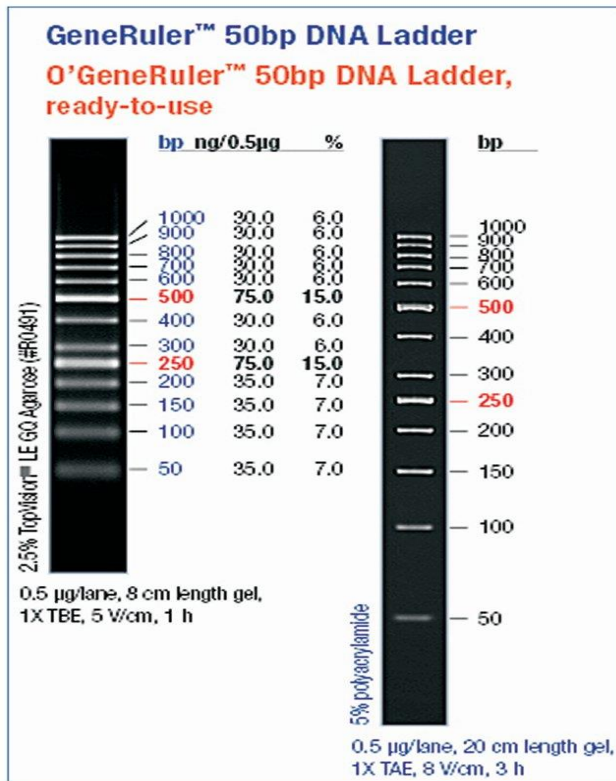
Anexo 2. Continuación...

Marcador BNLG197	Programa	Marcador PHI119	Programa
	95 °C - 3 minutos		95 °C - 3 minutos
	95 °C - 30 segundos		95 °C - 30 segundos
	59 °C - 30 segundos -40x		52 °C- 30 segundos -40x
	72 °C - 1 minutos		72 °C - 1 minutos
	72 °C - 10 minutos		72 °C - 10 minutos
	-4 °C		-4 °C
Marcador NC013	Programa	Marcador PHI057	Programa
	95 °C - 3 minutos		95 °C - 3 minutos
	95 °C - 30 segundos		95 °C - 30 segundos
	51 °C - 30 segundos -40x		52 °C - 30 segundos -40x
	72 °C -1 minutos		72 °C - 1 minutos
	72 °C - 10 minutos		72 °C - 10 minutos
	-4 °C		-4 °C

Anexo 3. Regla de ADN de 100 a 1000 pares de bases utilizada para la amplificación de marcadores BNLG y PHI



Anexo 4. Regla de ADN de 50 a 1000 pares de bases utilizada para la amplificación del marcador NC013



Anexo 5. Número de alelos totales encontrados en 25 accesiones de maíz blanco utilizando 10 marcadores microsatélites

Accesiones	Locus									
	BNLG 1272	BNLG 127	BNLG 400	BNLG 197	NC 013	PHI 063	PHI 112	PHI 96100	PHI 119	PHI 057
0041	7	2	1	7	2	2	1	2	1	1
0102	5	7	1	1	6	2	1	3	1	1
0116	9	9	1	2	6	3	1	8	1	1
0182	7	6	1	1	1	12	1	5	1	1
0184	6	7	1	1	2	2	1	6	1	1
0185	8	6	1	11	6	8	1	6	1	1
0188	5	9	1	9	2	9	1	5	1	1
0189	6	1	1	5	3	2	1	5	1	1
0233	7	8	1	1	6	5	1	4	1	1
0339	6	4	1	1	9	5	1	6	1	1
0341	6	5	1	1	7	2	1	7	1	1
0342	6	5	1	1	2	6	1	6	1	1
0344	10	3	1	1	6	2	1	5	1	1
0346	7	8	4	6	7	10	3	10	8	8
0347	6	7	1	1	2	1	1	4	1	1
0353	8	3	1	3	6	2	1	5	1	1
0355	7	3	1	5	4	2	1	5	1	1
0357	8	8	1	1	3	6	1	3	1	1
0358	6	3	1	5	1	11	1	6	1	1
0359	8	5	1	4	7	8	1	7	1	1
0504	6	6	1	1	4	1	1	4	1	1
0505	7	2	1	7	6	2	1	5	1	1
0511	7	7	1	1	4	10	1	4	1	1
0512	6	1	1	6	6	2	1	4	1	1
0515	9	10	1	1	4	9	1	4	1	1

Anexo 6. Abreviaturas

Siglas y acrónimos	Significado
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AMOVA	Análisis Molecular de Varianza
BNG	Banco Nacional de Germoplasma
CNIA	Centro Nacional de Investigación Agropecuaria
EDTA	Ácidoetilendiaminotetraacético
INTA	Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria
M	Mol (ar)
Mg	Miligramo
mM	Micromolar
ml	Mililitro
PCR	Reacción en la Cadena de la Polimerasa
SSR	Secuencia Simple Repetida
TRIS-HCl	Hidroximetil Aminometano Hidrocloride
TBE	Tris, Borato y EDTA
µl	Microlitro

Anexo 7. Glosario

2-Mercaptoetanol: Antioxidante, regulador y estabilizador de enzimas.

Accesión: Muestra de semilla que representa un cultivar, una línea o una población y que se mantiene almacenada para su conservación y uso.

Acetato de Potasio: Sal neutra del ácido acético y el hidróxido de potasio reguladora de la acides.

ADN (Ácido Desoxirribonucleico): Base molécula de la herencia.

Agarosa: Polisacárido formado por galactosa alfa y beta que se extrae de las algas marinas de los géneros *Gellidium* y *Gracillaria*.

Alelo: Cada una de las dos o más versiones de un gen.

Alineación: Etapa de la PCR inmediatamente después de la desnaturalización, en la cual se baja la temperatura para permitir que los dos iniciadores se unan a las frecuencias flaqueantes del ADN por amplificar en cada una de las hebras.

Amplificación: Creación de numerosas copias de un segmento de interés de ADN mediante PCR.

Bromuro de Etidio: Agente que se intercala entre las bases nitrogenadas, es usado como colorante fluorescente.

Buffer de Extracción: Compuesto de Tris HCl, EDTA, NaCl, 2 mercaptoetanol.

Centrifugar: Separación de las moléculas por tamaño o densidad mediante fuerzas centrífugas por el giro de un rotor.

Cloruro de Sodio: Sal común. En estudios genéticos aumenta el poder iónico de la solución y ocasiona la precipitación del ADN.

Desnaturalización del ADN: Separación de dos hebras que constituyen al ADN por rompimiento de los enlaces de hidrogeno entre bases complementarias.

Diversidad genética: Variación heredable entre y dentro de las poblaciones que se origina, se favorece o se mantiene por fuerzas evolutivas o selectivas.

EDTA (Ácidoetilendiaminotetraacético): Inhibidor de la acción de las nucleasas para proteger el ADN.

Elongación: Con ella se asegura que cualquier ADN de cadena simple restante sea totalmente ampliado.

Etanol: Líquido incoloro inflamable que se emplea como desinfectante. Facilita la desnaturalización proteica.

Extensión del ADN: Tercera etapa en la PCR. La temperatura es elevada a 70 °C para permitir que un ADN polimerasa inicie la síntesis a partir del iniciador agregando SSR sobre la hebra que sirve de templado.

Frecuencia alélica: Frecuencia con que una población presenta una determinada variante o alelo.

Gen: Segmento específico del ADN.

Germoplasma: Conjunto total de especies vivientes, subespecies, poblaciones definidas genéticamente, variantes genéticas y mutantes.

Heterocigosidad: La proporción de un individuo heterocigoto para un locus o en promedio para varios loci.

Marcador Molecular: Genes, proteínas o fragmentos de ADN polimórficos que permiten distinguir entre individuos, familias, poblaciones, grupos o especies.

Microsatélite: Pequeña secuencia entre dos y ocho nucleótidos que se repiten al azar a lo largo del genoma, en donde el número de repeticiones revela diferencias genéticas entre los individuos.

Número de alelos: Estimador de la variabilidad genética en poblaciones, se determina para cada muestra poblacional.

PCR (Polymerase Chain Reaction) Reacción en la Cadena de la Polimerasa: Técnica con la que se copian las hebras complementarias de una molécula de ADN simultáneamente a través de una serie de ciclos.

Taq Polimerasa: ADN polimerasa termo estable aislada de la bacteria termofílica *Thermusaquatics*.

Polimorfismo: Variación alélica en locus.

Propanol: Alcohol isopropílico.

Sulfato Dodecil Sódico: Compuesto tenso activo aniónico, que actúa como agente solubilizante de proteínas.

TE buffer: Solubiliza el ADN y lo protege de la degradación.

TRIS (Hidroximetil Amino Metano): Tampón biológico, cuya función es mantener el PH de la solución constante.