

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**CARACTERIZACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA EN  
VARIEDADES CRIOLLAS DE MAÍCES DE URUGUAY Y BRASIL**

**por**

**Victoria GARCIA DA ROSA RUETALO**

**Trabajo final de grado  
presentado como uno de los  
requisitos para obtener el  
título de Ingeniero Agrónomo**

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2024**

## PÁGINA DE APROBACIÓN

Trabajo final de grado aprobado por:

Director/a:

---

Ing. Agr. Dr. Rafael Vidal

---

Bióloga (PhD) Renata Flávia Carvalho

Tribunal:

---

Lic. (PhD) Magdalena Vaio

---

Ing. Agr. (Msc) Mariana Vilaró

---

Bióloga (PhD) Renata Flávia Carvalho

Fecha:

15 de Julio de 2024

Estudiante:

---

Victoria García da Rosa Ruétalo

## AGRADECIMIENTOS

A mi familia y amigos, por acompañar y apoyar mis estudios y logros siempre.

A Facundo, por su paciencia, amor y apoyo incondicional.

A Enzo, por bancar todo el proceso y apoyar siempre.

A mis orientadores: Renata y Rafael, por guiarme y ayudarme en este desafío.

A todos los compañeros y amigos que encontré en el Laboratorio de Evolución y Domesticación de Plantas, en especial a Natália y Magdalena, por formarme y enseñarme las técnicas para este trabajo y darme la chance de enamorarme de la citogenética.

A papá, un beso al cielo, por acompañarme y motivarme siempre. Por su fe en mí.

**Lo logré pa!**

## TABLA DE CONTENIDOS

PÁGINA DE APROBACIÓN .....	2
AGRADECIMIENTOS .....	3
RESUMEN.....	7
ABSTRACT .....	8
1. INTRODUCCIÓN .....	9
1.1. OBJETIVOS .....	10
1.1.1. Objetivo general .....	10
1.1.2. Objetivos específicos.....	10
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	11
2.1. EL MAÍZ .....	11
2.2. ORIGEN Y DOMESTICACIÓN DEL MAÍZ .....	12
2.3. LAS RAZAS DE MAÍZ .....	14
2.3.1. Razas de maíz de Brasil.....	16
2.3.2. Razas de maíz de Uruguay .....	17
2.4. VARIEDADES CRIOLLAS DE URUGUAY Y BRASIL.....	18
2.5. CITOGENÉTICA EN PLANTAS.....	20
2.6. VARIABILIDAD CITOGENÉTICA DEL MAÍZ .....	22
2.6.1. <i>Knobs</i> heterocromáticos .....	22
2.6.2. Cromosomas B .....	23
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	25
3.1. MATERIALES .....	25
3.2. MÉTODOS .....	29
3.2.1. Obtención y Pre-tratamiento de raíces .....	29
3.2.2. Preparaciones cromosómicas.....	29
3.2.3. Bando fluorescente DAPI.....	29
3.2.4. Análisis de imágenes y construcción de idiogramas .....	30
3.2.5. Análisis estadísticos .....	31
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	32
4.1. VARIABILIDAD DE NÚMERO DE <i>KNOBS</i> EN URUGUAY Y BRASIL .....	37
4.2. PORCENTAJE DE HETEROCROMATINA ANALIZADO POR TIPO DE GRANO .....	42
4.3. RAZAS DE MAÍCES DE URUGUAY Y BRASIL .....	44

4.4. FRECUENCIA DE CROMOSOMAS B EN URUGUAY Y BRASIL .	
.....	49
5. CONCLUSIONES .....	53
6. BIBLIOGRAFÍA .....	54
7. ANEXOS .....	61

## LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

### Tabla N°

<b>Tabla 1</b> Lista de accesiones incluidas en la caracterización citogenética de Uruguay y Brasil .....	26
<b>Tabla 2</b> Variables citogenéticas obtenidas para cada individuo analizado en ambos países y promedios por país .....	33
<b>Tabla 3</b> Descripción citogenética de razas de Uruguay y Brasil.....	45

### Figura N°

<b>Figura 1</b> Ubicación geográfica y los diferentes biomas de variedades criollas de maíz de Brasil y Uruguay.....	28
<b>Figura 2</b> Frecuencia relativa de knobs en razas de Uruguay y Brasil .....	37
<b>Figura 3</b> Número de knobs promedio analizado por tipo de grano.....	38
<b>Figura 4</b> Clases de número de knobs de los individuos analizados para razas de Uruguay.....	41
<b>Figura 5</b> Clases de número de knobs de los individuos analizados para razas de Brasil .....	41
<b>Figura 6</b> Variabilidad en el número de knobs (DAPI+) de 9 razas de maíz de Uruguay.....	47
<b>Figura 7</b> Variabilidad en el número de knobs (DAPI+) de 12 razas de maíz de Brasil .....	48
<b>Figura 8</b> Cromosomas metafásicos con bandeo fluorescente DAPI con presencia de cromosomas B de Uruguay y Brasil.....	52

## RESUMEN

Las variedades criollas de maíz son poblaciones altamente dinámicas y al mismo tiempo una herramienta de conservación de los recursos genéticos y generadoras de diversidad. La información sobre la diversidad de maíz de Uruguay y Brasil fue actualizada en una nueva reclasificación de razas de las Tierras Bajas de América del Sur, sin embargo este estudio no contempló el área de la citogenética. Los *knobs* cromosómicos son bloques de heterocromatina que se tiñen diferencialmente y han sido utilizados para caracterizar citogenéticamente diferentes genotipos de maíz. El objetivo del trabajo fue caracterizar la variabilidad genética de variedades criollas de maíces de Uruguay y Brasil mediante técnicas de citogenética, basado en el estudio de número y tamaño de *knobs*, porcentaje de heterocromatina y presencia de cromosomas supernumerarios B (Bs). Se estudiaron 36 accesiones de variedades criollas de maíz clasificadas en 21 razas. El análisis de número de *knobs* y presencia de Bs se realizó sobre cromosomas metafásicos mitóticos mediante bandeo fluorescente DAPI. Se observó variación significativa en número de *knobs* para maíces dentados y harinosos, y gran variabilidad en el porcentaje de heterocromatina, además se encontraron *knobs* medianos a grandes en todos los individuos analizados. Las razas presentaron también gran variabilidad en cuanto a número de *knobs* y porcentaje de heterocromatina, sin embargo no significativo. En los resultados obtenidos se destaca la diferencia en la frecuencia de Bs, de 0,25 para Uruguay y 0,025 para Brasil, siendo el primer registro realizado para un conjunto de razas para ambos países. En conclusión, existe variabilidad intragenómica en número de *knobs* y porcentaje de heterocromatina. Además, hay diferencias significativas entre las frecuencias de Bs entre ambos países, las cuales pueden estar asociadas con la ruta de dispersión de maíz hasta las tierras bajas.

*Palabras clave:* DAPI, cromosoma B, *Zea mays* sp. *mays* L.

## ABSTRACT

Maize landraces are highly dynamic populations and at the same time a tool for conserving genetic resources and generating diversity. Information on maize diversity in Uruguay and Brazil was updated in a new reclassification of South American lowland landraces, however, this study did not address the area of cytogenetics. Chromosomal *knobs* are blocks of heterochromatin that stain differentially and have been used to cytogenetically characterise different maize genotypes. The aim of this work was to characterise the genetic variability of maize landraces from Uruguay and Brazil using cytogenetic techniques, based on the study of the number and size of *knobs*, percentage of heterochromatin and presence of supernumerary B chromosomes (Bs). Thirty-six accessions of maize landraces classified into 21 races were studied. The analysis of number of *knobs* and presence of Bs were performed on mitotic metaphase chromosomes by DAPI fluorescence banding. Significant variation was observed in the number of *knobs* for dent and flourey maize, and great variability in the percentage of heterochromatin, in addition medium to large *knobs* were found in all the individuals analysed. The races also showed great variability in terms of number of *knobs* and heterochromatin percentage, although not significant. In the results obtained, the difference in the frequency of Bs stands out, 0.25 for Uruguay and 0.025 for Brazil, being the first record made for a group of maize landraces for both countries. In conclusion, there is intragenomic variability in the number of *knobs* and percentage of heterochromatin. Moreover, there are significant differences in Bs frequencies between both countries, which may be associated with the route of maize dispersal to the lowlands.

*Keywords:* DAPI, B chromosome, *Zea mays* sp. *mays* L.

## 1. INTRODUCCIÓN

El maíz se diseminó por América y luego al resto del mundo generando una gran diversidad genética debido a la acción humana y adaptaciones a diferentes ambientes. Los países de América del Sur, reconocidos como centro de diversidad genética secundario de maíz, poseen gran riqueza de variedades criollas, conservadas principalmente por productores familiares (Silva et al., 2020).

Las variedades criollas son poblaciones con alta variabilidad, adaptadas a diferentes condiciones ambientales y son el resultado del proceso de selección y domesticación de las plantas, así como la principal forma de conservación de la diversidad llevada a cabo por agricultores (Silva et al., 2021).

Para clasificar la diversidad de maíz se trabajó en características morfológicas, moleculares, agronómicas y citogenéticas (Serratos, 2009). A nivel citogenético en maíz la caracterización se enfocó en número de *knobs* (regiones heterocromáticas observables citológicamente) y la presencia y frecuencia de cromosomas B. Los primeros trabajos fueron desarrollados por McClintock, quien junto con Kato y Blumenshcein elaboraron una clasificación de maíces de toda América (McClintock et al., 1981).

El presente trabajo buscó ampliar el conocimiento de la diversidad de maíces actualmente conservados en las Tierras Bajas de América del Sur, específicamente de Brasil y Uruguay.

Para ello se propuso responder las siguientes preguntas:

¿Cómo es el cariotipo de las variedades criollas de Brasil y Uruguay? ¿Hay variabilidad en cuanto a número de *knobs* y porcentaje de heterocromatina?

¿Hay cromosomas B en maíces de Brasil y Uruguay?, en caso de presencia, ¿en qué frecuencia y en qué razas hay? ¿A qué se puede deber esa presencia?

## **1.1. OBJETIVOS**

### **1.1.1. Objetivo general**

Caracterizar la variabilidad genética mediante técnicas de citogenética de variedades criollas de maíces actualmente cultivadas en Brasil y Uruguay.

### **1.1.2. Objetivos específicos**

- Caracterizar los cariotipos de las variedades criollas.
- Caracterizar el número de *knobs* de las variedades criollas.
- Caracterizar la presencia de cromosomas B de las variedades criollas.
- Analizar las relaciones entre los parámetros fenotípicos, razas, origen de las variedades criollas y la presencia de cromosomas B.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. EL MAÍZ

El maíz, uno de los tres cereales básicos que alimentan a la humanidad, se siembra en 171 países y ocupa unas 246 millones de hectáreas, según datos de FAOSTAT de 2022. Su importancia se debe no solo a la superficie de cultivo sino a los múltiples usos, platos tradicionales y amplia adaptación. Además del consumo directo, su producción se destina a raciones y otros productos industriales como jarabes, aceites, féculas y combustibles.

El maíz es una planta C4 de hábito anual y ciclo estival que puede tener de 0.3 a 5 metros de altura; su tallo es erecto y simple formado por nudos y entrenudos, con pocos o sin macollos. Las hojas se insertan de manera alterna en los nudos del tallo, envolviendo el entrenudo con la vaina de la hoja y cubriendo la yema floral (Reyes, 1990).

Es una planta diclino-monoica que presenta flores masculinas y femeninas en el mismo individuo bien diferenciadas y separadas. La inflorescencia masculina es siempre terminal y se le conoce como panoja o panícula (Reyes, 1990).

La inflorescencia femenina se localiza en las yemas axilares de las hojas y se le conoce como espiga. La espiga femenina puede formar de 400 a 1000 granos (Kato et al., 2009) - frutos independientes llamados carióspsides - dispuestos en hileras de 8 a 30 por mazorca y cubierto por brácteas y vainas (“chala”). Por todas estas características, el maíz es una planta anemófila y de fecundación cruzada (Reyes, 1990).

## 2.2. ORIGEN Y DOMESTICACIÓN DEL MAÍZ

El maíz cultivado surge de la domesticación a partir de *Zea mays ssp. parviglumis*, pariente silvestre más cercano (Kato et al., 2009). Actualmente existen diferentes postulados que intentan reconstruir el camino evolutivo del maíz: origen unicéntrico, origen multicéntrico, origen estratificado y actualmente el flujo génico de *mexicana*. Además, hay en la actualidad estudios de la dispersión del maíz debido a los diferentes tipos de grano, que se hace referencia en esta sección.

El origen unicéntrico (Beadle, 1980) sostiene que el maíz fue domesticado de poblaciones de teosinte anual *Z. mays ssp. parviglumis* hace 9000 años en la cuenca del río Balsas (México), siendo por lo tanto de origen monofilético. Matsuoka et al. (2002) aportaron evidencia genética a este origen utilizando marcadores microsatélites para un grupo de poblaciones, mostrando también una única línea monofilética que deriva de *ssp. parviglumis*.

Van Heerwaarden et al. (2011) agregaron evidencia genética y arqueológica para la domesticación de maíz, sugiriendo que la posición ancestral aparente del maíz de las regiones altas resulta de una introgresión de *mexicana*. El maíz de las regiones bajas occidentales de México es genéticamente más similar al ancestro común del maíz y está estrechamente más relacionado con otras poblaciones existentes que el maíz de las regiones altas del centro de México.

Basado en el estudio de *knobs* de maíces y teosintes de América, Barbara McClintock y colaboradores en 1981 propusieron que el maíz fue originario y domesticado en varias regiones de Mesoamérica, con un origen multicéntrico. Propusieron cinco centros de domesticación y cuatro centros de diversificación, ubicados en México y Guatemala, en base a patrones de distribución de los *knobs* localizados en varios cromosomas. Los cinco centros indicados fueron: 1) Mesa Central de México, 2) región de altura media en los estados de Morelos, México, Guerrero y alrededores, 3) región centro-norte de Oaxaca, 4) territorio ubicado entre los estados de Oaxaca y Chiapas y 5) región alta de Guatemala (McClintock et al., 1981).

Un trabajo reciente (Kistler et al., 2018) basado en los análisis genómicos de material arqueológico, propone que el maíz domesticado evolucionó a partir del teosinte silvestre *parviglumis* en México, hace 9000 años, atravesó América Central

hace ~7500, y se extendió por las tierras bajas (regiones con altitudes menores a 1500m) de América del Sur hace ~6500 años. Las poblaciones ancestrales de maíz sudamericano llegaron de México en un estado parcialmente domesticado, quedando aisladas del *pool* génico de los teosinte de México antes de que se fijaran los rasgos del maíz domesticado. Sin embargo, antes de que el síndrome de domesticación fuera fijo y estable, múltiples linajes se separaron y las presiones de selección en los loci de domesticación continuaron independientemente fuera del centro primario. Algunas de estas poblaciones semi domesticadas condujeron a linajes con escasa diversidad como para continuar el proceso de domesticación. Otras, como el maíz sudamericano ancestral, evolucionaron completamente bajo continuas presiones antropogénicas. Por lo tanto, las poblaciones de maíz con síndrome de domesticación estable han evolucionado en América del Sur a partir de poblaciones ancestrales parcialmente domesticadas de México.

Las evidencias genómicas, lingüísticas, arqueológicas y paleoecológicas sugieren que la región del suroeste de la Amazonia fue un probable centro de mejoramiento secundario del maíz de América del Sur, donde ocurrió un proceso de domesticación parcial (Costa et al., 2022). Estos autores sugieren una dispersión de acuerdo a la expansión de los grupos lingüísticos: Tupi, Macro-Jê y Arawak. A partir de un posible origen en la Amazonia, surgieron diferentes rutas de dispersión del maíz: 1) hacia Amazonia del Norte, que continuó hacia la Caatinga y el sudeste de la Mata Atlántica (harinosos); 2) hacia el sur de Brasil, pasando por el Cerrado y el sur del Atlántico Sur hasta llegar a la región pampeana (harinosos-Entrelaçado); y 3) a lo largo de la Costa Atlántica, siguiendo los movimientos migratorios Tupi y con dos expansiones separadas: una de norte a sur, y la otra de sur a norte (duros, harinosos y pisingallos).

Para complementar la información preexistente, según Yang et al. (2023), el maíz, en un primer momento, se domesticó a partir de un ancestro común con el teosinte silvestre *parviglumis*, apoyando el origen unicéntrico del origen del maíz. Luego, mediante análisis genético en maíz tradicional, moderno y teosintes, y con el mayor número de muestras secuenciadas hasta la fecha, confirmaron que hubo flujo génico mediante hibridación con el otro ancestro silvestre *mexicana* ~5700 años antes del presente. Estos autores demostraron que todo el maíz moderno tiene entre 20 y 25% del genoma con contribución de *mexicana* (Yang et al., 2023).

Estas últimas evidencias asocian los procesos de dispersión y domesticación como simultáneos o interconectados, en lugar de sucesivos.

### **2.3. LAS RAZAS DE MAÍZ**

Los usos, adaptación y manejos del maíz cultivado en diferentes regiones van dando origen a diferentes grupos de maíces con características comunes. Esos grupos fueron clasificados por primera vez por Sturtevant (1899) que organizó la diversidad del maíz en seis grupos de acuerdo a los tipos de grano: *Indurata* (duro), *Saccharata* (dulce), *Amylacea* (harinoso), *Indentata* (dentado), *Everta* (pisingallo) y *Tunicata* (tunicado). Esta clasificación botánica no tomó en cuenta el componente geográfico ni los usos que podrían darse a los diferentes tipos de grano (Silva et al., 2020).

Anderson y Cutler (1942) propusieron una clasificación natural, basada en caracteres morfológicos y asociados con información arqueológica como forma de estudiar la diversidad del maíz. Así, estos autores proponen clasificar en razas y definen la raza de maíz como “un grupo de individuos relacionados con suficientes características en común para permitir su reconocimiento como grupo” (p. 85). Estos autores incluyeron información sobre la identificación y localización geográfica de las accesiones, consideraron clave las características morfológicas de las espigas, caracteres de grano y mazorca principalmente, descriptores agronómicos y una clasificación para diferenciar las plantas en categorías raciales.

Años más tarde, Brieger et al. (1958) quienes estudiaron los maíces de Sudamérica, definieron como raza a cualquier grupo de poblaciones con un número suficiente de caracteres distintivos, que se mantenga mediante reproducción panmíctica y que ocupe zonas definidas. Además, propusieron la categoría “grupo racial”, que está formado por un número de razas que tienen características en común, que pueden ser tamaño o color de espiga, tipo de grano, etc.

A partir de la definición de razas se desarrollaron varios trabajos de caracterización en las Américas. De ese modo, a fines de la década de 1970, se había acumulado mucha información sobre razas de maíz del continente americano. Posteriormente con el desarrollo de la computación, surge la taxonomía numérica (clasificación en

función de semejanza o similitud) y se comienza a utilizar métodos multivariados para clasificar los recursos genéticos (Gutiérrez Chacón, 2001).

Con el paso del tiempo, y las mejoras de las técnicas de análisis de datos, se llevaron a cabo nuevas colecciones y/o revisión de la clasificación de las razas de maíz. Perales y Golicher (2014) utilizaron colecciones recientes e históricas de maíz de México para determinar regiones biogeográficas y centros de diversidad, además de haber analizado cómo ha cambiado la diversidad en los últimos 60 años.

Finalmente, se propuso un nuevo concepto de raza para maíz en un *Seminario y Taller internacional de Clasificación Racial de la Diversidad del maíz peruano con fines de Bioseguridad*, llevado a cabo en agosto de 2016: “La raza de maíz es un conjunto de variedades con características genéticas comunes, adaptadas a ciertas condiciones ambientales asociadas con ciertos contextos sociales y culturales” (Silva et al., 2020, p. 59).

Las razas son importantes porque permiten evaluar la diversidad presente conservada (*ex situ* o *in situ*), proponer programas de mejoramiento genético, favorecer la conservación y valorización de los recursos genéticos (Silva et al., 2020).

### 2.3.1. Razas de maíz de Brasil

El primer registro de razas de maíz en Brasil fue en 1946 por Cutler, basado en características de tipo de grano, número de hileras y color de grano, típico de un complejo racial: *Cateto*, que encontró en el Caribe, Ecuador y Argentina. La dispersión de esa raza posiblemente se haya dado con la expansión de los grupos indígenas, caribes, arawuacos y tupíes desde Cuba hasta Argentina (Cutler, 1946).

Años más tarde, se publicó la clasificación de razas brasileñas y otros países, presentada por Brieger et al. (1958). Los autores utilizaron un conjunto de 33 variables, entre cualitativas y cuantitativas, para evaluar las características morfológicas de grano, espiga, panoja y planta. Además de estas variables analizadas, tomaron en cuenta información obtenida de la recolección de los materiales (como origen geográfico), y finalmente describieron 22 razas y subrazas de Brasil, con una descripción detallada de cada una de ellas.

Paterniani y Goodman (1977) en su trabajo basaron su clasificación en 91 poblaciones de 3000 accesiones recolectadas en todas las regiones de Brasil y áreas adyacentes (Uruguay, Argentina, Paraguay, Bolivia y Guayana). En este caso, la evaluación se basó en experimentos a campo. Se reportaron y describieron 23 razas y subrazas de Brasil, distribuidas en cuatro complejos raciales: 1) *indígenas*, cultivados y conservados por poblaciones indígenas, presumiblemente sin cambios desde la época Precolombina, 2) *comerciales antiguos*, también de origen indígena desde el periodo Precolombino pero con cambios a lo largo del tiempo debido a su cultivo a gran escala, 3) *comerciales recientes*, utilizadas en la época Poscolombina, con cierto nivel de introgresión de las razas indígenas de maíz, y 4) *exóticos*, originalmente encontrados en otras áreas y luego se introdujeron en la región en la era moderna.

Dentro del complejo racial *indígena*, las razas y subrazas descritas fueron: *Pisingallos Guarani*, *Morotí*, *Morotí Precoce*, *Morotí Guapí*, *Caingang*, *Lenha* y *Entrelaçado*. Sin tener en cuenta los pisingallos, todas las demás razas son de tipo de grano harinoso, lo que muestra la gran preferencia de los indígenas por este tipo de grano (Paterniani & Goodman, 1977).

Dentro del complejo racial *comerciales antiguos*, las razas y subrazas descritas fueron: *Cristal*, *Cristal Sulino*, *Cristal Semi-Dentado*, *Canario de Ocho*, *Cateto*,

Cateto Sulino Precoce, Cateto Sulino, Cateto Sulino Escuro, Cateto Sulino Grosso, Cateto Assis Brasil, Cateto Grande, Cateto Nortista, Cateto Nortista Precoce (Paterniani & Goodman, 1977).

Dentro del complejo racial *comerciales recientes*, las razas y subrazas descritas fueron: Dente Riograndense, Dente Riograndense Rugoso, Dente Riograndense Liso, Dente Paulista, Dente Branco, Dente Branco Riograndense, Dente Branco Paulista, Dente Semi-Dentado, Semi-Dentado Riograndense, Semi-Dentado Paulista, Cravo, Cravo Riograndense y Cravo Paulista (Paterniani & Goodman, 1977).

Dentro del complejo racial *Exóticos*, las razas descritas fueron: Hickory King y Tusón (Paterniani & Goodman, 1977).

### **2.3.2. Razas de maíz de Uruguay**

Brieger et al. (1958) realizaron las primeras clasificaciones de razas de variedades criollas en base a caracteres morfológicos de la mazorca, de la panoja y caracteres de la planta, y clasificaron la colección en 7 razas.

Años más tarde, Paterniani y Goodman (1977) clasificaron 6 razas y una subraza: Caingang, Cristal Sulino, Canario de Ocho, Cateto Sulino Precoce, Cateto Sulino (subraza Oscura) y Cateto Sulino Grosso.

En 1978 se llevó a cabo una expedición de recolección en el territorio uruguayo en el marco del proyecto: “Colección, Conservación y Evaluación del Germoplasma de Maíz en la Región Oriental de América del Sur” financiado por el Consejo Internacional de Recursos Fitogenéticos (IBPGR) y ejecutado por la Facultad de Agronomía de la Universidad de la República. En este proyecto, a cargo del Ing. Agr. José L. De León, se recolectaron 859 variedades criollas de maíz que luego se caracterizaron en base a los descriptores morfológicos de espiga y grano en 16 grupos preliminares (De María et al., 1979). Fernández et al. (1983) evaluaron 852 variedades criollas y analizaron características primarias (rendimiento de grano, de forraje residual y vuelco) y secundarias (ciclo, altura de planta y espiga, macollaje, número de espigas y características de espiga y grano).

Los autores tomaron como referencia la clasificación propuesta por Paterniani y Goodman (1977) y clasificaron la colección en 10 razas: Cateto Sulino, Canario de Ocho, Cateto Sulino Grosso, Cuarentino, Semi-Dentado Riograndense, Moroti Precoce, Cristal, Dente Riograndense, Dente Branco Riograndense y Pisingallo; y 3 subrazas: Cateto Sulino Escuro, Dente Riograndense Rugoso y Liso.

#### **2.4. VARIEDADES CRIOLLAS DE URUGUAY Y BRASIL**

Las variedades criollas, de acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2011), son producidas y conservadas por los agricultores. Pueden ser poblaciones locales de plantas seleccionadas por los agricultores o, a veces, son variedades mejoradas que fueron liberadas hace muchos años. En nuestro país el Instituto Nacional de Semillas (INASE) las define como:

una población local seleccionada y mantenida por agricultores de una determinada localidad de Uruguay durante al menos 15 ciclos productivos. La variedad criolla puede haber partido de cultivares registrados o no, cuya historia de mantenimiento varietal y adaptación agronómica a las condiciones locales de producción es conocida. La variedad criolla debe diferenciarse claramente del cultivar original y de otro cultivar notoriamente conocido. (INASE, 2014)

De acuerdo con Camacho Villa et al. (2005) las variedades criollas se caracterizan por ser: genéticamente diversas, reconocibles por sus características morfológicas, de uso o adaptación, con un origen histórico, resultado de varios ciclos de multiplicación y selección en una determinada región, tanto por una familia o por grupos de agricultores, con adaptación local y asociadas a sistemas tradicionales de producción, no siendo el resultado final de programas formales de mejoramiento. Más allá de las diferencias y matices entre las definiciones, las variedades criollas son poblaciones dinámicas con alta variabilidad y adaptadas a diferentes condiciones ambientales y la principal forma de conservación de la diversidad para la agricultura (Silva et al., 2021).

Con la finalidad de actualizar, mapear, identificar y clasificar las razas de Uruguay y Brasil, se desarrolló el Proyecto “Razas de maíz de las tierras bajas de América

del Sur de Brasil y Uruguay” (Silva et al., 2020). Las tierras bajas abarcan regiones con altitudes menores a 1500 m y comprende a los siguientes países: Uruguay, parte de Argentina, Brasil, Paraguay, Guayana y parte de Bolivia (Paterniani & Goodman, 1977).

En este proyecto, se colectaron un total de 287 variedades criollas, 215 de Brasil y 72 de Uruguay. Con la colección de maíces se realizó una clasificación racial basada en descriptores morfológicos. Los descriptores utilizados fueron 11 características cualitativas: de espiga (textura del color del grano, color del grano, tipo de grano, forma de la espiga, arreglo de los granos en la hilera, color del marlo y número de hileras) y de grano (color del pericarpio, color del endosperma, forma del grano y forma del borde del grano); y 8 cuantitativas: de espiga (número de granos por hileras, largo de la espiga, diámetro de la espiga, diámetro del marlo y diámetro del raquis) y de grano (largo del grano, ancho del grano y espesor del grano).

El primer criterio que adoptaron los autores fue el tipo de grano (harinoso, dentado y semidentado, duro y semiduro, y pisingallo), luego se tomaron en cuenta la variabilidad genética, la región geográfica y los aspectos socioculturales dentro de cada grupo (Silva et al., 2020).

Esta clasificación determinó 29 razas y 3 complejos raciales, siendo 25 razas/complejos descritos para Brasil y 10 razas/complejos de Uruguay. De las 29 razas/complejos, 14 se consideraron nuevas, siendo: Dente Branco Mineiro (Brasil), Dente Branco Sul Matogrossense (Brasil), Dente Colorado Mineiro (Brasil), Dente Colorado Riograndense (Brasil), Dente Colorado Sul Matogrossense (Brasil), Dente Mineiro (Brasil), Dente Paraibano (Brasil), Dente Pintado Riograndense (Brasil), Dente Rosado Riograndense (Brasil), Dente Sul Mato-grossense (Brasil), Dez fileiras alaranjado (Brasil), Doce (Brasil), Exótica (Brasil) y Pisingallo redondo (Uruguay).

## 2.5. CITOGENÉTICA EN PLANTAS

La citogenética es la disciplina que estudia la estructura, localización y función de los cromosomas (incluyendo número y forma de estos) y su relación con la transmisión y recombinación de genes. En los últimos años, los avances en la citogenética se debieron al desarrollo de nuevas técnicas y tecnologías, insumos y equipamientos, contribuyendo a la aplicabilidad de protocolos (Honfi et al., 2017).

El campo de la citogenética vegetal fue fuertemente influenciado por los aportes de la Dra. Barbara McClintock (1929, 1951, 1960) en sus trabajos en maíz. Su método para la identificación individual de los cromosomas fue clave para grandes descubrimientos sobre estructura y comportamiento dinámico del genoma de maíz. Sus estudios de los cromosomas, basados en técnicas de tinción con Carmín, mostraron la identificación individual de los mismos en profase, el largo relativo y la relación de los brazos cromosómicos (McClintock, 1929).

Los principales estudios de la citogenética clásica se basan en la determinación de las características del cariotipo y la identificación de cromosomas mediante técnicas de tinción convencionales y bandeo cromosómico. También, se evalúa el tamaño del genoma y se analiza el comportamiento meiótico de los cromosomas. Las características estructurales y cuantitativas de los cromosomas (cariotipo) son importantes en investigaciones básicas y aplicadas (Poggio & Naranjo, 2004).

A lo largo de los años, además de las tinciones convencionales, se observó que algunos agentes fluorescentes, como la quinacrina permitían obtener patrones de banda específicos, detectando regiones ricas en adenina-timina (A-T) (Caspersson et al., 1968). Vosa y Marchi (1972) compararon la tinción con quinacrina y Giemsa y observaron que en maíz las regiones de *knobs* aparecían más oscuras con la tinción Giemsa. Este descubrimiento fue de gran importancia para localizar *knobs* de manera rápida en maíz.

En 1974, Gill y Kimber estudiaron los cromosomas del centeno e identificaron su patrón de heterocromatina utilizando tinción Giemsa y bandeo C, lo cual les permitió distinguir las bandas heterocromáticas y regiones centroméricas claramente, diferenciando tamaños, intensidad y distribución espacial (Gill & Kimber, 1974). Esta misma técnica fue utilizada para describir la composición

cromosómica de la cebada y siguió utilizándose en años posteriores (Linde-Laursen, 1984).

Un análisis más preciso de la variación cariotípica se puede obtener mediante técnicas de bandeo que revelan marcadores cromosómicos (secuencias de ADN altamente repetidas ricas en A-T o guanina-citocina (G-C), por ejemplo). La técnica de bandeo fluorescente con 4,6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) es utilizada de rutina para revelar heterocromatina constitutiva. La heterocromatina constitutiva es un componente del genoma compuesto por cromatina y secuencias de ADN satélite y presenta variación intra e interespecífica en muchos grupos. Puede tener importancia en eventos regulatorios, en el desarrollo y organización tridimensional de los cromosomas en el núcleo (Poggio & Naranjo, 2004).

Según Herrera (2007), hubo un avance desde el siglo pasado en los estudios citogenéticos, destacando los bandeos cromosómicos y la técnica de hibridación fluorescente in situ (FISH). Esta técnica, combina información acerca de la morfología cromosómica con la información molecular de las secuencias, y permite realizar estudios de mapeo y de distribución física de las mismas, analizar relaciones evolutivas entre especies y estudiar la organización del genoma y la arquitectura nuclear.

Los estudios citogenéticos han permitido realizar grandes aportes al conocimiento de los mecanismos de aislamiento reproductivo y modos de especiación en plantas, contribuyendo también, a través del análisis genómico, a la determinación del origen y evolución de distintos grupos taxonómicos, siendo muy importantes los aportes para la resolución de problemas taxonómicos, evolutivos y aplicados (Poggio & Naranjo, 2004).

## 2.6. VARIABILIDAD CITOGENÉTICA DEL MAÍZ

### 2.6.1. *Knobs* heterocromáticos

El maíz es considerado un diploide con 20 cromosomas. Las especies diploides son: *Z. diploperennis*, *Z. luxurians*, *Z. nicaraguensis* y *Z. mays*; la especie tetraploide es *Z. perennis* con  $2n=40$  (Doebley, 1990). Los cromosomas de todas las especies de *Zea spp* con  $2n=20$  presentan bloques de heterocromatina, denominados nudos cromosómicos o *knobs* que fueron observados en 34 posiciones, variando en tamaño y número; mientras que en el tetraploide *Z. perennis* no se encontraron *knobs* (González et al., 2013). Los *knobs* están presentes en los cromosomas del maíz en localizaciones que son características de diferentes poblaciones desde su descubrimiento por McClintock (1929), y se continúa investigando hasta la actualidad. Los *knobs* se pueden encontrar presentes en diferente número, localización y tamaño, y los trabajos de McClintock et al. (1981) han demostrado que son una herramienta útil para la clasificación racial y geográfica de las poblaciones de maíz y una indicación de diversidad.

La heterocromatina *knob* es diferente a otras clases de heterocromatina presentes en el genoma (heterocromatina centromérica, en cromosoma B y la presente en la región organizadora nucleolar-NOR) en cuanto a la apariencia citológica, su tiempo de replicación en mitosis y secuencia del ADN. Estos *knobs* están conformados principalmente por 2 secuencias de ADN satélite repetidas en tándem: 180-pb y TR-1 (con 350 pb), con una variación entre miles a millones de copias (Ananiev et al., 1998; Peacock et al., 1981). Además, los *knobs* poseen otros elementos en su estructura, elementos móviles descubiertos por McClintock (1951), con la capacidad indirectamente de controlar la actividad o expresión de los genes (Ananiev et al., 1998).

El tamaño y la presencia de los *knobs* son de gran importancia en el estudio del maíz y según McClintock (1960), los *knobs* varían desde ausencia hasta una serie ascendente que da lugar a *knobs*: diminutos, pequeños, medianos, grandes o muy grandes.

Kato et al. (2004) estudiaron la estructura de cromosomas somáticos de raíz de 14 líneas de maíz mediante la técnica de FISH. Estos autores hicieron una descripción de lo observado en cada cromosoma y encontraron una variación significativa entre

las líneas respecto a presencia de *knobs*, microsátélites, TR-1 y sondas centroméricas.

En diversos estudios, fue reportado que el contenido de ADN en *Zea* estaba relacionado con variaciones en el número y tamaño de los *knobs* (Fourastié et al., 2017; Realini et al., 2015; Tito et al., 1991). Fourastié et al. (2017) no encontraron correlación entre el contenido de ADN y el número de *knobs*, pero si una correlación positiva significativa entre el contenido de ADN y el porcentaje de heterocromatina, llegando a la conclusión de que el contenido de ADN no se debe a variaciones en número, sino que a variaciones en tamaño de *knobs*.

Tito et al. (1991) y Realini et al. (2018) coinciden y sugieren que el porcentaje de heterocromatina en cada individuo depende no solo del número de *knobs* sino también del tamaño de estos, dado principalmente por las copias repetidas de ADN que contienen.

Sin embargo, Carvalho et al. (2022) no encontraron un patrón que indique que hay tal relación entre el número de *knobs* y mayor o menor contenido de ADN, estudiado en híbridos y líneas endogámicas de maíz. Estos autores indicaron que los *knobs* alteran el largo de los brazos cromosómicos por lo que debería incrementar el tamaño del genoma, infiriendo que este efecto puede estar enmascarado por variabilidad de los elementos transponibles.

Por todo lo dicho anteriormente, el número, posición, tamaño y la composición de secuencias de los *knobs*, han sido utilizados para caracterizar a nivel citogenético las poblaciones de maíces.

### **2.6.2. Cromosomas B**

Los cromosomas B (Bs) son cromosomas adicionales heterocromáticos que no recombinan con ningún miembro del complemento normal (cromosomas A), tienen modos de herencia irregulares no mendelianos y además no son esenciales para el crecimiento y reproducción normal de las plantas que lo portan (Jones & Houben, 2003; McClintock et al., 1981; Randolph, 1941).

La forma en que el cromosoma B del maíz interactúa con su genoma huésped constituye un sistema coevolutivo huésped-parásito (Jones & Houben, 2003). Los

Bs en maíz están formados por: un brazo corto, centrómero, *knob* centromérico, eucromatina proximal, 4 bloques de heterocromatina distal y eucromatina distal. Las secuencias repetidas en Bs son: ZmBs, *knob*-180, CL-repeat y Stark. Para mantenerse en las poblaciones, los Bs disponen de un mecanismo impulsor “drive mechanism” que consiste en la no disyunción en la mitosis del polen. Los granos de polen maduros contienen 2 células espermáticas con presencia de Bs en una de ellas, en la doble fecundación, hay preferencia por la célula espermática que contiene los Bs para formar el cigoto, y la otra célula espermática formará el endospermo (Birchler & Yang, 2021).

El tamaño de estos cromosomas es menor que los del complemento A (Jones & Houben, 2003; McClintock et al., 1981), además, presentan diferentes posiciones centroméricas (fácilmente detectables en mitosis), presentando algunas variantes como: isocromosomas o telocéntricos (Birchler & Yang, 2021), y en algunas especies, microcromosomas (Jones & Houben, 2003).

Además, el comportamiento mitótico y meiótico es diferente en los Bs respecto a los cromosomas normales del complemento. En mitosis, estos cromosomas muestran un número constante en tejidos somáticos; mientras que en meiosis los Bs nunca se aparean o recombinan con los del complemento, se aparean entre sí formando multivalentes en el caso que haya más de 2 (Jones & Houben, 2003).

Con la finalidad de contribuir a los aportes anteriormente generados por el proyecto “Razas de maíz de las tierras bajas de América del Sur: ampliar el conocimiento sobre la diversidad de variedades criollas del Brasil y Uruguay” (Silva et al., 2020), es que en este trabajo se lleva a cabo un estudio citogenético (área no analizada previamente) de variedades criollas de Uruguay y Brasil. El objetivo es caracterizar la variabilidad cariotípica, analizando las relaciones entre los parámetros fenotípicos, razas, cromosomas B y origen de las variedades criollas.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. MATERIALES**

Para el presente trabajo se analizaron 36 accesiones de variedades criollas de maíz colectadas de familias de agricultores de Uruguay y Brasil y clasificadas en 21 razas y por tipo de grano en el marco del proyecto “Razas de maíz de las tierras bajas de América del Sur de Brasil y Uruguay” (Tabla 1).

Las accesiones analizadas de Brasil fueron de los estados de: Mato Grosso do Sul, Paraíba, Rio Grande do Sul y Minas Gerais, correspondientes a los biomas: Cerrado, Caatinga, ecotono Bosque Atlántico-Pampa y Bosque Atlántico. En Uruguay fueron realizadas en los departamentos de: Rocha, Tacuarembó, Rivera y Canelones, correspondientes al bioma Pampa (Figura 1).

**Tabla 1***Lista de accesiones incluidas en la caracterización citogenética de Uruguay y Brasil*

Accesión	n	Raza	Tipo de grano	Estado / Departamento	Bioma	Región	País
MSJ2B	5	Morotí	Harinoso	Mato Grosso do Sul	Cerrado	Centro Oeste	Brasil
PBN12A	1	Exótica	Harinoso	Paraíba	Caatinga y Ecotono Bosque Atlántico	Nordeste	Brasil
MSX2B	3	Dente Sul Mato-grossense	Dentado	Mato Grosso do Sul	Cerrado	Centro Oeste	Brasil
PBN22A	3	Dente Paraíbano	Dentado	Paraíba	Caatinga	Nordeste	Brasil
PBR4B	3	Dente Paraíbano	Dentado	Paraíba	Caatinga	Nordeste	Brasil
PBR5B	1	Dente Paraíbano	Dentado	Paraíba	Caatinga	Nordeste	Brasil
PBY3A	1	Dente Paraíbano	Dentado	Paraíba	Caatinga	Nordeste	Brasil
RSF2E	1	Dente Riograndense	Dentado	Rio Grande do Sul	Ecotono Bosque Atlántico/Pampa	Sur	Brasil
RSF2H	3	Oito Carreiras	Dentado	Rio Grande do Sul	Ecotono Bosque Atlántico/Pampa	Sur	Brasil
RSG1A	2	Dente Riograndense	Dentado	Rio Grande do Sul	Ecotono Bosque Atlántico/Pampa	Sur	Brasil
RSZ2C	1	Dente Riograndense	Dentado	Rio Grande do Sul	Ecotono Bosque Atlántico/Pampa	Sur	Brasil
PBF2A	2	Complexo Paraíbano	Duro	Paraíba	Caatinga	Nordeste	Brasil
RSZ1A	2	Cateto	Duro	Rio Grande do Sul	Ecotono Bosque Atlántico/Pampa	Sur	Brasil
PBN8A	2	Alho (Avatí Pichingá)	Pisingallo	Paraíba	Caatinga, Cerrado y Bosque Atlántico	Nordeste	Brasil
RSI3C	2	Pipoca redonda (Avatí Pichingá Ihú)	Pisingallo	Rio Grande do Sul	Ecotono Bosque Atlántico/Pampa y Bosque Atlántico	Sur	Brasil
MGF1C	3	Alho	Pisingallo	Minas Gerais	Caatinga, Cerrado y Bosque Atlántico	Sudeste	Brasil
MGP3B	1	Pipoca redonda	Pisingallo	Minas Gerais	Ecotono Bosque Atlántico/Pampa y Bosque Atlántico	Sudeste	Brasil
MGY8A	1	Alho	Pisingallo	Minas Gerais	Caatinga, Cerrado y Bosque Atlántico	Sudeste	Brasil

<b>Accesión</b>	<b>n</b>	<b>Raza</b>	<b>Tipo de grano</b>	<b>Estado / Departamento</b>	<b>Bioma</b>	<b>Región</b>	<b>País</b>
RSX6A	2	Pipoca redonda	Pisingallo	Rio Grande do Sul	Ecotono Bosque Atlántico/Pampa y Bosque Atlántico	Sur	Brasil
UYSB1A	1	Blanco dentado	Dentado	Canelones	Pampa	Sur	Uruguay
UYSS7A	2	Blanco dentado	Dentado	Canelones	Pampa	Sur	Uruguay
UYES1A	2	Amarillo dentado	Dentado	Rocha	Pampa	Este	Uruguay
UYNN4B	1	Amarillo dentado	Dentado	Tacuarembó /Rivera	Pampa	Norte	Uruguay
UYNN4C	1	Blanco dentado	Dentado	Tacuarembó/ Rivera	Pampa	Norte	Uruguay
UYNB4A	2	Complejo Cateto Sulino	Duro	Tacuarembó/ Rivera	Pampa	Norte	Uruguay
UYNN6B	3	Complejo Cateto Sulino	Duro	Tacuarembó/ Rivera	Pampa	Norte	Uruguay
UYNR1A	1	Complejo Cateto Sulino	Duro	Tacuarembó/ Rivera	Pampa	Norte	Uruguay
UYNB7A	1	Cateto Sulino Grosso	Duro	Tacuarembó/ Rivera	Pampa	Norte	Uruguay
UYNN2B	1	Cateto Sulino Grosso	Duro	Tacuarembó/ Rivera	Pampa	Norte	Uruguay
UYER5B	1	Pisingallo redondo	Pisingallo	Rocha	Pampa	Este	Uruguay
UYNN2A	3	Caingang	Harinoso	Tacuarembó/ Rivera	Pampa	Norte	Uruguay
UYNB1A	3	Avatí Morotí	Harinoso	Tacuarembó/ Rivera	Cerrado, Ecotono Bosque Atlántico/Pampa y Pampa	Norte	Uruguay
UYNB5A	1	Avatí Morotí	Harinoso	Tacuarembó	Cerrado, Ecotono Bosque Atlántico/Pampa y Pampa	Norte	Uruguay
UYNN1A	3	Complejo Morotí-Caingang	Harinoso	Tacuarembó/ Rivera	Ecotono Bosque Atlántico/Pampa y Pampa	Norte	Uruguay
UYNN3B	3	Complejo Morotí- Caingang	Harinoso	Tacuarembó/ Rivera	Ecotono Bosque Atlántico/Pampa y Pampa	Norte	Uruguay
UYNB2A	3	Complejo Avatí Morotí	Harinoso	Tacuarembó/ Rivera	Pampa	Norte	Uruguay

### Figura 1

*Ubicación geográfica y los diferentes biomas de variedades criollas de maíz de Brasil y Uruguay*



*Nota.* PB: Paraíba, MG: Minas Gerais, MS: Mato Grosso do Sul, RS: Rio Grande do Sul, TA/RV: Tacuarembó/Rivera, RO: Rocha y CA: Canelones. Adaptado de Silva et al. (2020).

## **3.2. MÉTODOS**

### **3.2.1. Obtención y Pre-tratamiento de raíces**

Las semillas de las distintas accesiones colectadas se pusieron a germinar en cajas de Petri con papel de filtro humedecido a 24°C en cámara de crecimiento. Luego de 3 o 4 días, se extrajeron las raíces primarias (con menos de 1 cm de largo). Se hizo un pre-tratamiento con 0,002 M 8-hidroxiquinoleina de los ápices radiculares a temperatura ambiente por 2,5 horas y luego se colocaron las muestras por 2,5 horas a 10°C. Se fijaron en solución Carnoy 3:1 (alcohol etílico absoluto/ ácido acético glacial) por 1 hora a temperatura ambiente y luego se conservaron a -20°C.

### **3.2.2. Preparaciones cromosómicas**

Para las preparaciones cromosómicas, las raíces fueron digeridas en solución de enzimas 20% pectinasa y 2% celulasa en cámara húmeda en estufa por 3 horas a 37°C. Se agregó ácido acético 60% y se desmembraron las raíces bajo lupa, luego se adicionó ácido acético 45%. Las muestras con alto número de metafases (previamente observadas en microscopio óptico de contraste de fases Olympus), se sometieron a nitrógeno líquido, se secaron al aire y posteriormente se almacenaron a -20°C (Vaio et al., 2016).

### **3.2.3. Bando fluorescente DAPI**

Antes de someter los preparados a la tinción con 4,6-diamidino-2-fenilindol (DAPI), los mismos se desnaturalizaron utilizando el mix de hibridación y la temperatura del protocolo FISH. Luego, se agregó solución de 10 ul de DAPI por 1 ml de medio de montaje (Vaio et al., 2016).

Para observar en el microscopio de epifluorescencia se los selló con esmalte transparente. Las imágenes fueron capturadas con un microscopio Zeiss equipado con una cámara Zeiss. Las mejores metafases fueron procesadas para el brillo y contraste en el programa Adobe Photoshop versión CS3. A partir de las imágenes procesadas, se determinó el número de *knobs* por metafase analizada, la presencia o ausencia de cromosomas B y en caso de presencia, la cantidad (mediante conteo cromosómico) y la frecuencia.

#### **3.2.4. Análisis de imágenes y construcción de idiogramas**

Los análisis para determinar los parámetros cariotípicos: longitud cromosómica total (LCT), longitud total de *knobs* cromosómicos (LKT) y el porcentaje de heterocromatina, fueron realizados empleando el software DRAWID (Kirov et al., 2017).

La LCT se calculó en base a la sumatoria del largo individual de todos los cromosomas dentro de una metafase; el LKT se calculó como la sumatoria total de los largos de *knob* cromosómicos detectados; el porcentaje de heterocromatina se estimó como el porcentaje de la LCT ocupada por los *knobs* (Realini, 2017). Los cromosomas se ordenaron de mayor a menor y por cada idiograma se obtuvo una planilla con información de las mediciones de cromosomas y *knobs* (ver figuras A1 y A2 del Anexo).

### 3.2.5. Análisis estadísticos

Se calcularon los parámetros descriptivos totales por accesión, región, país y tipo de grano de LCT, LKT, porcentaje de heterocromatina, número de *knobs* y frecuencia de cromosomas B. Se calculó la frecuencia de *knobs* y se establecieron 3 clases a partir de planillas electrónicas de Microsoft Excel.

Para evaluar la normalidad de los datos, se realizó la prueba de Shapiro-Wilks. Los datos que no siguieron distribución normal, se analizaron con test no paramétrico de Kruskal Wallis. Para analizar las diferencias en los resultados por regiones, razas y tipos de grano, se analizó la distribución de los datos mediante Kruskal Wallis con una probabilidad de 0,05. Para establecer relaciones entre el porcentaje de heterocromatina y número de *knobs* se realizó un análisis de correlación de Pearson, con una probabilidad de 0,05. Estos análisis fueron realizados en InfoStat *versión* 2008.

Para identificar diferencias entre las frecuencias de cromosomas B de ambos países, se realizó el Test de Chi cuadrado de Pearson, con una probabilidad de 0,05. Este análisis fue realizado en InfoStat *versión* 2008.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los últimos registros de caracterización de maíces de las Tierras Bajas datan de los años 70 (Paterniani & Goodman, 1977; Serratos, 2009). Por lo tanto, los resultados de este trabajo son de gran relevancia ya que es la primera vez que se caracterizan citogenéticamente variedades criollas y razas de maíz de Uruguay y Brasil.

El número de *knobs* promedio obtenidos fueron de 8,51, para el total de las muestras, de 9 para Brasil y de 7,78 para Uruguay. La LCT promedio total fue de 83,83, de 83,85 para Brasil y 83,73 para Uruguay. La LKT promedio fue de 7,25 para el total de las muestras, de 7,69 para Brasil y de 6,63 para Uruguay. El porcentaje de heterocromatina fue de 8,70% para el total de las muestras, de 9,20% para Brasil y de 7,97% para Uruguay (Tabla 2). Finalmente, la frecuencia de cromosomas B promedio fue de 0,13 para el total de las muestras y de 0,025 para Brasil y de 0,25 para Uruguay.

Como ninguno de los datos presentó distribución normal, para identificar diferencias entre las medias de las variables analizadas por país, raza y tipo de grano, se hizo el test de Kruskal Wallis y se encontraron diferencias significativas para el número de *knobs* por tipo de grano (ver tablas A1-A4, A6 del Anexo y Figura 3). La frecuencia de cromosomas B por países también fue significativa mediante el análisis de Chi cuadrado de Pearson (ver tabla A7 del Anexo). De todas las variables analizadas, la única correlación significativa fue entre el número de *knobs* y porcentaje de heterocromatina y fue de 0,72 (ver tabla A8 del Anexo).

**Tabla 2***Variables citogenéticas obtenidas para cada individuo analizado en ambos países y promedios por país*

<b>País</b>	<b>Raza</b>	<b>Accesión</b>	<b>Número de <i>knobs</i></b>	<b>Longitud cromosómica total</b>	<b>Longitud total de <i>knobs</i></b>	<b>Porcentaje de heterocromatina</b>
<b>Uruguay</b>	Blanco dentado	UYSB1A	9	79,29	5,81	7,33
<b>Uruguay</b>	Blanco dentado	UYSS7A	12	93,53	13,17	14,09
<b>Uruguay</b>	Blanco dentado	UYSS7A	10	80,66	9,87	12,24
<b>Uruguay</b>	Blanco dentado	UYNN4C	8	93,51	7,31	7,82
<b>Uruguay</b>	Amarillo dentado	UYES1A	7	59,85	3,07	5,12
<b>Uruguay</b>	Amarillo dentado	UYES1A	10	68,29	6,71	9,83
<b>Uruguay</b>	Amarillo dentado	UYNN4B	5	87,10	3,14	3,61
<b>Uruguay</b>	Complejo Cateto Sulino	UYNB4A	8	60,94	4,57	7,51
<b>Uruguay</b>	Complejo Cateto Sulino	UYNB4A	6	68,39	3,37	4,92
<b>Uruguay</b>	Complejo Cateto Sulino	UYNN6B	9	83,34	8,17	9,81
<b>Uruguay</b>	Complejo Cateto Sulino	UYNN6B	10	66,70	8,40	12,59
<b>Uruguay</b>	Complejo Cateto Sulino	UYNN6B	8	69,96	4,47	6,39
<b>Uruguay</b>	Complejo Cateto Sulino	UYNR1A	8	70,13	6,29	8,97
<b>Uruguay</b>	Cateto Sulino Grosso	UYNB7A	13	62,89	10,72	17,05
<b>Uruguay</b>	Cateto Sulino Grosso	UYNN2B	5	64,61	1,68	2,60
<b>Uruguay</b>	Pisingallo redondo	UYER5B	12	76,76	10,92	14,22
<b>Uruguay</b>	Caingang	UYNN2A	7	88,96	8,70	9,78
<b>Uruguay</b>	Caingang	UYNN2A	6	106,44	5,73	5,38

<b>País</b>	<b>Raza</b>	<b>Accesión</b>	<b>Número de <i>knobs</i></b>	<b>Longitud cromosómica total</b>	<b>Longitud total de <i>knobs</i></b>	<b>Porcentaje de heterocromatina</b>
<b>Uruguay</b>	Caingang	UYNN2A	7	89,17	8,77	9,84
<b>Uruguay</b>	Avatí Morotí	UYNB1A	7	118,01	8,90	7,54
<b>Uruguay</b>	Avatí Morotí	UYNB1A	8	99,23	6,74	6,79
<b>Uruguay</b>	Avatí Morotí	UYNB1A	9	129,96	13,21	10,16
<b>Uruguay</b>	Avatí Morotí	UYNB5A	7	85,75	5,73	6,68
<b>Uruguay</b>	Complejo Morotí Caingang	UYNN1A	7	92,78	5,29	5,70
<b>Uruguay</b>	Complejo Morotí Caingang	UYNN1A	6	89,43	4,30	4,81
<b>Uruguay</b>	Complejo Morotí Caingang	UYNN1A	6	78,61	3,32	4,23
<b>Uruguay</b>	Complejo Morotí Caingang	UYNN3B	7	76,88	5	6,50
<b>Uruguay</b>	Complejo Morotí Caingang	UYNN3B	9	68,78	7,11	10,33
<b>Uruguay</b>	Complejo Morotí Caingang	UYNN3B	7	94,18	5,59	5,94
<b>Uruguay</b>	Complejo Avatí Morotí	UYNB2A	6	96,79	7,56	7,81
<b>Uruguay</b>	Complejo Avatí Morotí	UYNB2A	5	94	4,60	4,89
<b>Uruguay</b>	Complejo Avatí Morotí	UYNB2A	5	84,46	3,88	4,59
<b>Brasil</b>	Morotí	MSJ2B	9	88,99	7,64	8,59
<b>Brasil</b>	Morotí	MSJ2B	10	88,89	10,38	11,68
<b>Brasil</b>	Morotí	MSJ2B	9	69,21	8,54	12,35
<b>Brasil</b>	Morotí	MSJ2B	8	63,50	7,29	11,48
<b>Brasil</b>	Morotí	MSJ2B	9	97,43	6,09	6,25
<b>Brasil</b>	Exótica	PBN12A	5	78,72	5,55	7,05
<b>Brasil</b>	Dente Sul Matogrossense	MSX2B	11	65,22	6,71	10,28

<b>País</b>	<b>Raza</b>	<b>Accesión</b>	<b>Número de <i>knobs</i></b>	<b>Longitud cromosómica total</b>	<b>Longitud total de <i>knobs</i></b>	<b>Porcentaje de heterocromatina</b>
<b>Brasil</b>	Dente Sul Matogrossense	MSX2B	10	108,19	10,03	9,27
<b>Brasil</b>	Dente Sul Matogrossense	MSX2B	8	91,24	6,85	7,51
<b>Brasil</b>	Dente Paraíbano	PBN22A	7	91,33	2,66	2,91
<b>Brasil</b>	Dente Paraíbano	PBN22A	6	64,81	1,22	1,88
<b>Brasil</b>	Dente Paraíbano	PBN22A	5	71,38	1,96	2,75
<b>Brasil</b>	Dente Paraíbano	PBR4B	13	78,07	5,46	6,99
<b>Brasil</b>	Dente Paraíbano	PBR4B	14	77,39	8,13	10,51
<b>Brasil</b>	Dente Paraíbano	PBR4B	14	61,95	4,69	7,57
<b>Brasil</b>	Dente Paraíbano	PBR5B	15	73,29	12,48	17,03
<b>Brasil</b>	Dente Paraíbano	PBY3A	9	66,91	8,01	11,98
<b>Brasil</b>	Dente Riograndense	RSF2E	7	75,73	6,54	8,63
<b>Brasil</b>	Dente Riograndense	RSG1A	7	93,30	8,73	9,36
<b>Brasil</b>	Dente Riograndense	RSG1A	16	85,26	12,73	14,93
<b>Brasil</b>	Dente Riograndense	RSZ2C	13	147,58	15,40	10,44
<b>Brasil</b>	Oito Carreiras	RSF2H	11	118,18	20,50	17,34
<b>Brasil</b>	Oito Carreiras	RSF2H	8	70,26	8,79	12,50
<b>Brasil</b>	Oito Carreiras	RSF2H	9	60,95	9	14,77
<b>Brasil</b>	Complexo Paraíbano	PBF2A	11	94,74	13,61	14,37
<b>Brasil</b>	Complexo Paraíbano	PBF2A	8	110,61	10,34	9,35
<b>Brasil</b>	Cateto	RSZ1A	6	91,39	5,96	6,52
<b>Brasil</b>	Cateto	RSZ1A	5	91,76	5,86	6,39

<b>País</b>	<b>Raza</b>	<b>Accesión</b>	<b>Número de <i>knobs</i></b>	<b>Longitud cromosómica total</b>	<b>Longitud total de <i>knobs</i></b>	<b>Porcentaje de heterocromatina</b>
<b>Brasil</b>	Alho (Avatí Pichingá)	PBN8A	10	65,25	9,50	14,56
<b>Brasil</b>	Alho (Avatí Pichingá)	PBN8A	5	61,83	4,30	6,96
<b>Brasil</b>	Pipoca redonda (Avatí Pichingá Ihú)	RSI3C	10	62,63	9,21	14,70
<b>Brasil</b>	Pipoca redonda (Avatí Pichingá Ihú)	RSI3C	7	90,66	8,23	9,08
<b>Brasil</b>	Alho	MGF1C	11	93,62	7,77	8,30
<b>Brasil</b>	Alho	MGF1C	10	89,21	7,66	8,59
<b>Brasil</b>	Alho	MGF1C	7	88,83	4,95	5,57
<b>Brasil</b>	Alho	MGY8A	8	60,27	3,38	5,60
<b>Brasil</b>	Pipoca redonda	MGP3B	8	83,99	5,59	6,65
<b>Brasil</b>	Pipoca redonda	RSX6A	6	96,37	4,17	4,32
<b>Brasil</b>	Pipoca redonda	RSX6A	6	101,30	3,88	3,83
<b>Promedio Brasil</b>	-	-	<b>9</b>	<b>83,85</b>	<b>7,69</b>	<b>9,20</b>
<b>Promedio Uruguay</b>	-	-	<b>7,78</b>	<b>83,73</b>	<b>6,63</b>	<b>7,97</b>
<b>Promedio total</b>	-	-	<b>8,51</b>	<b>83,83</b>	<b>7,25</b>	<b>8,70</b>

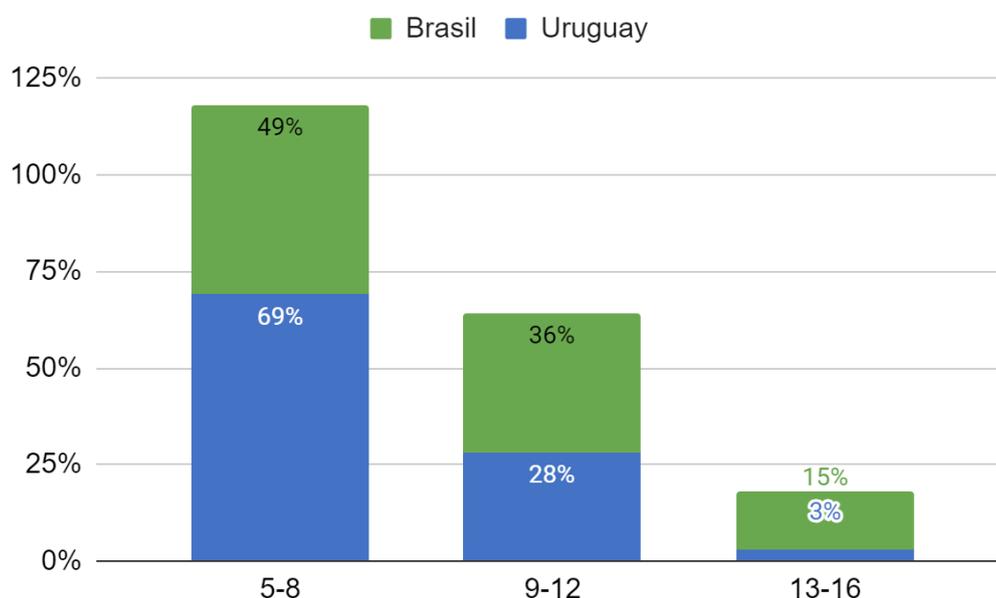
#### 4.1. VARIABILIDAD DE NÚMERO DE *KNOBS* EN URUGUAY Y BRASIL

El bandeo DAPI realizado en metafases mitóticas de las variedades criollas de maíz analizadas de ambos países varió entre 5 y 16 *knobs* (Tabla 2).

Para comparar las frecuencias relativas de *knobs* de ambos países, se establecieron 3 clases (rangos de 5-8, 9-12 y 13-16), se calculó la frecuencia relativa máxima y mínima para Uruguay y Brasil, observándose una variación en el número de *knobs* y clases más frecuentes (Figura 2).

**Figura 2**

*Frecuencia relativa de knobs en razas de Uruguay y Brasil*



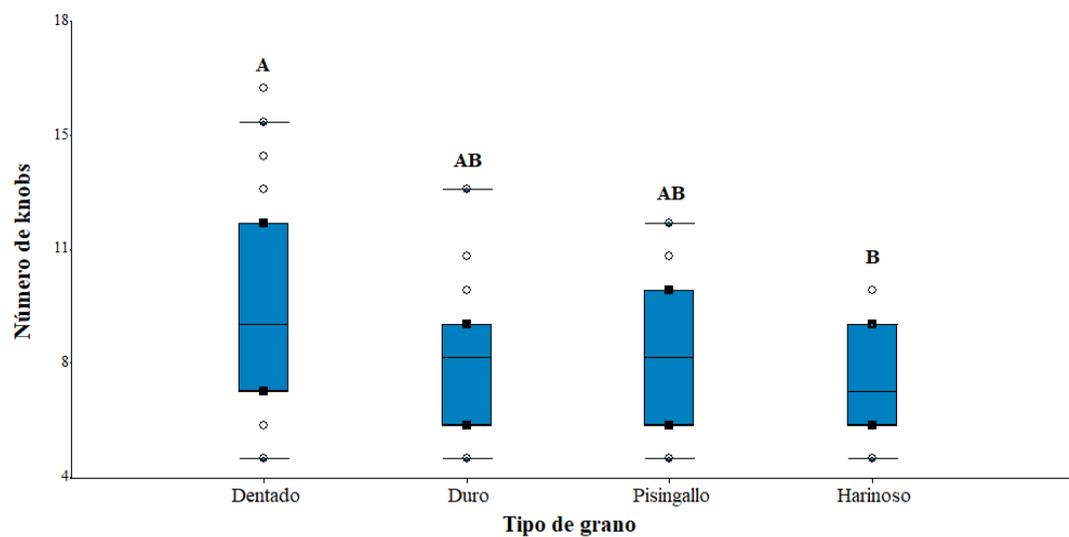
La clase correspondiente al rango de 5 a 8 *knobs*, fue la más frecuente en ambos países, mientras que la clase de *knobs* de 13 a 16 fueron menos frecuentes de encontrar. Las diferencias en la proporción de la clase de 5 a 8 *knobs*, respecto de la clase de 13 a 16 es mucho mayor en Uruguay, pasa de 22 individuos (69%) a un individuo (3%). Mientras que en Uruguay solo se encontró un individuo (3%) con el mayor número de *knobs*, en Brasil se encontraron 5 individuos (15%).

El bandeo DAPI identifica bloques de heterocromatina o *knobs* como bandas DAPI+, tanto sobre cromosomas interfásicos como metafásicos (González et al., 2013; Poggio et al., 1998; Realini et al., 2015). El empleo de esta metodología

permitió identificar una gran variabilidad cariotípica en número y tamaño de *knobs*, incluso dentro de una misma accesión. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas de número de *knobs* por tipo de grano entre maíces dentados y harinosos. Los maíces de grano dentado presentaron el mayor número medio de *knobs* (9,76), mientras que los maíces harinosos presentaron el menor número medio de *knobs* (7,23) (Figura 3).

### Figura 3

*Número de knobs promedio analizado por tipo de grano*



*Nota.* Se grafican la media, los mínimos y máximos de las mediciones y las diferencias significativas con letras. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

Poggio et al. (1998) también encontraron variaciones intra e inter poblacionales en cuanto a número de *knobs* entre 21 variedades criollas de maíz de 5 provincias de Argentina (Catamarca, Jujuy, Tucumán, Salta y Formosa). Las variedades con un rango mayor de *knobs* (3-14) se encontraron en altitudes más bajas, mientras que las variedades con un menor rango de número de *knobs* (1-4) pertenecían a altitudes más altas.

En otro trabajo del mismo grupo, resultados similares fueron reportados por Fourastié et al. (2017), estos autores trabajaron con 10 variedades criollas de maíz correspondientes a 4 razas del Noroeste de Argentina y encontraron que el número de *knobs* no difería significativamente entre accesiones de maíces de tipo harinoso, pisingallo y dentado.

Realini (2017) presentó resultados similares en cuanto a número de *knobs* en diferentes tipos de grano de 15 razas de maíz del Noreste de Argentina, y detectó que las poblaciones de maíces harinosos presentaron menor número de *knobs*, mientras que maíces pisingallos y duros presentaron mayor número y frecuencia de regiones *knobs*.

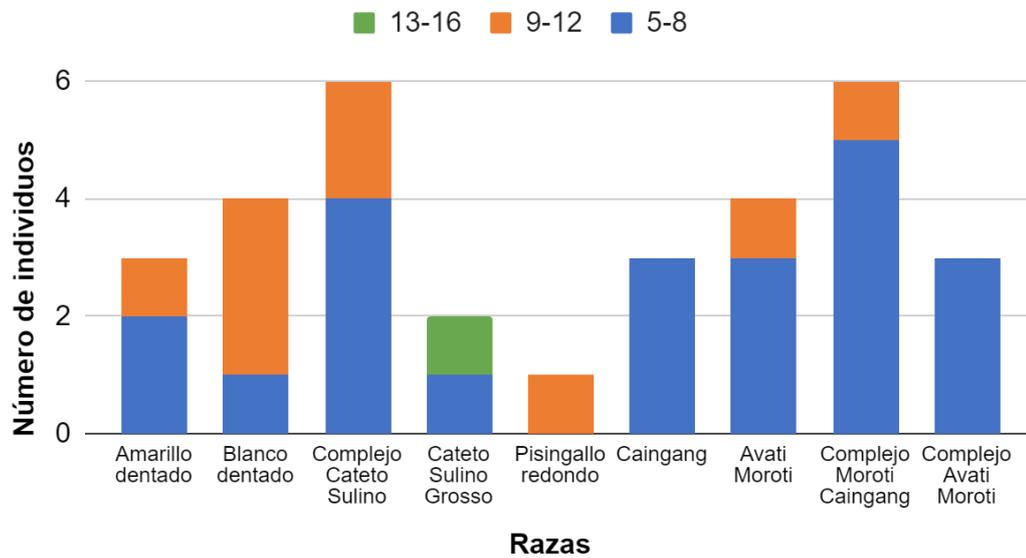
Los resultados de Realini (2017) corroboran los resultados del presente trabajo, donde los maíces harinosos presentaron menor número de *knobs* que pisingallos. Los maíces dentados fueron los de mayor número de *knobs*, este tipo de maíces tienen una importante presencia entre los agricultores de Uruguay y Brasil (Silva et al., 2020).

Dentro de razas se encontró gran variación en el número de *knobs*. En la mayoría de las razas de Uruguay predomina la clase de 5-8 *knobs*, pero la raza Blanco dentado tiene predominancia de la clase de 9-12 *knobs* (Figura 4). En Brasil también predomina la clase de 5-8 *knobs* pero con mayores proporciones de las demás clases, respecto a Uruguay (Figura 5). En las raza Morotí predomina la clase de 9-12 *knobs*, mientras que en las razas Dente Paraíbano y Dente Riograndense hay una gran proporción de individuos con 13-16 *knobs*. Si bien se identificó variación entre las razas estudiadas para ambos países, en nuestro análisis las diferencias no fueron significativas.

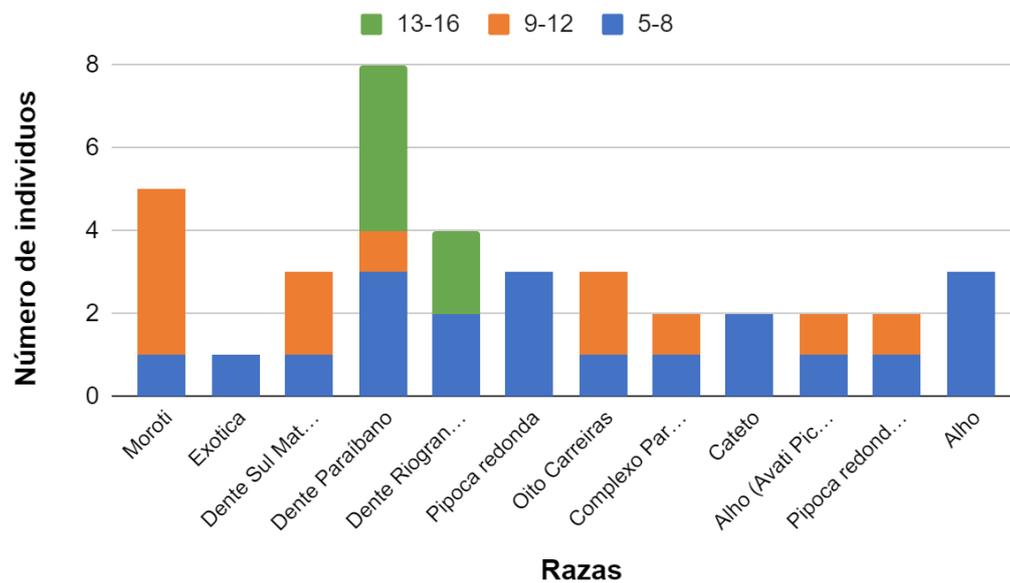
Como se puede observar, por ejemplo, la raza Dente Paraíbano de Brasil, presentó un rango amplio de número de *knobs* (de 5 a 15), con variación también en porcentaje de heterocromatina, que fue de 1,88% a 17,03%. En Uruguay, Cateto Sulino Grosso presentó un rango de 5 a 13 *knobs*, y un porcentaje de heterocromatina de 2,60% a 17,05%. De acuerdo con Realini et al. (2015, 2018) esta variación entre individuos de una misma raza podría explicarse por la heterocigosis en la presencia/ausencia observada en *knobs* (en el presente trabajo no fue posible la identificación correcta de cromosomas homólogos, por lo tanto, no es posible afirmar si había pares de cromosomas en heterocigosis para los *knobs*).

**Figura 4**

*Clases de número de knobs de los individuos analizados para razas de Uruguay*

**Figura 5**

*Clases de número de knobs de los individuos analizados para razas de Brasil*



#### 4.2. PORCENTAJE DE HETEROCROMATINA ANALIZADO POR TIPO DE GRANO

El tipo de grano contribuye a la caracterización de razas, además de análisis por país y la variabilidad dentro de las propias razas (Silva et al., 2020). Los tipos de grano y las razas están asociados, pero se trabajará con tipo de grano porque estos se separaron por número de *knobs*.

Los maíces dentados tuvieron un mayor rango (1,88 % a 17,34 %) y media (9,47%) de porcentaje de heterocromatina mientras que los harinosos menor rango (4,23 % a 12,35 %) y media (7,65). Los maíces duros y pisingallos presentaron medias similares (8,87 y 8,53, respectivamente), pero con un mínimo y máximo en cada grupo diferente, encontrándose un mayor rango de porcentaje de heterocromatina en maíces de grano duro (2,60% a 17,05%) respecto a pisingallos (3,83% a 14,70%).

Realini (2017) encontró que las poblaciones de maíces harinosos presentaron menor porcentaje de heterocromatina. En el presente trabajo, los maíces harinosos presentaron menor rango y media de porcentaje de heterocromatina, lo cual es concordante con sus resultados. Además, según esta autora, el tamaño de cada *knob* se estima en relación a la LCT: los *knobs* pequeños ocupan  $\leq 10\%$ , los *knobs* medianos entre 10% y 20% y los *knobs* grandes  $\geq 20\%$ . Esta estimación de los tamaños también fue utilizada en el presente trabajo.

En el estudio de casos particulares, un individuo de la raza Complejo Cateto Sulino (tipo de grano duro) que presentó 8 *knobs* mayormente de tamaño mediano y pequeño presentó un porcentaje de heterocromatina de 14,36%, mientras que otro individuo de la misma raza con el mismo número de *knobs* mayormente medianos a grandes, presentó un porcentaje de heterocromatina de 21,31%.

De acuerdo a Realini et al. (2018) el tamaño de los *knobs* determina el porcentaje de heterocromatina de los cariotipos y se espera una correlación positiva entre número de *knobs* y porcentaje de heterocromatina. En nuestros resultados, el porcentaje de heterocromatina y el número de *knobs* presentaron correlación positiva significativa de 0,72 (Tabla A8).

Los rangos de porcentaje de heterocromatina de los tipos de grano estudiados fueron variables (1,88% a 17,34%), sin embargo, y a pesar de la correlación significativa con el número de *knobs*, no se detectaron diferencias significativas entre porcentaje de heterocromatina por tipos de grano.

Como fue demostrado anteriormente, hay variaciones significativas entre el número de *knobs* para tipo de grano, al ser los *knobs* bloques de heterocromatina y el porcentaje de heterocromatina considerar el LKT, se esperaría encontrar que los tipos de grano con mayor número de *knobs* tengan mayor porcentaje de heterocromatina. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre porcentaje de heterocromatina asociado a tipo de grano.

Fourastié et al. (2017) encontraron una correlación positiva significativa entre el contenido de ADN y el porcentaje de heterocromatina. Esto explica como el análisis de la heterocromatina es un estudio mucho más complejo que solo medir y trabajar con tamaño de los *knobs* basado en medidas de LKT respecto a LCT , ya que se trata de contenido de ADN.

Además, otra posible explicación para el resultado observado es que las metafases presentaron distintos grados de condensación de los cromosomas. Esto influyó en los resultados de porcentaje de heterocromatina diferentes, lo que pudo generar algún tipo de sesgo. Todo esto evidencia algunas de las limitaciones de la técnica empleada.

### 4.3. RAZAS DE MAÍCES DE URUGUAY Y BRASIL

Existe variabilidad citogenética entre accesiones de una misma raza. En la tabla 3, se incluye una descripción citogenética de las razas de Uruguay y Brasil. Entre las 21 razas estudiadas, no se encontraron diferencias significativas (0,05) para las variables citogenéticas (número de *knobs* y porcentaje de heterocromatina) (Figura 6; Figura 7).

En un estudio sobre 7 razas de maíz del Noroeste de Argentina y 5 teosintes, González et al. (2013) encontraron variabilidad en cuanto a número y secuencias de *knobs* dentro de una misma raza, sin embargo, el número de *knobs* de individuos (4 a 7 analizados) dentro de una misma accesión era el mismo. En los resultados del presente trabajo, existe variabilidad en cuanto a número de *knobs* y porcentaje de heterocromatina entre accesiones.

Según Silva et al. (2020), la mayoría de la diversidad de maíz se puede observar dentro de razas y no entre razas, y esto se debe a que una raza de maíz es un conjunto de variedades criollas que poseen características fenotípicas semejantes pero que conservan y generan diversidad genética. Los estudios con marcadores fenotípicos (en base a características morfológicas) son clave para clasificar razas de maíz, sin embargo, los marcadores genético-moleculares pueden informar sobre la diversidad interna (informar sobre alelos favorables y haplotipos asociados a caracteres de interés como por ejemplo: tolerancias y calidad nutricional) y la calidad de la conservación de dichas razas para permitir la selección y uso de estos materiales en programas de mejoramiento genético.

Es por esto que en el presente trabajo, la mayoría de las razas tienen gran variabilidad en el rango de porcentaje de heterocromatina y número de *knobs*, no siendo estables estos valores dentro de una misma raza.

Asimismo, del total de razas estudiadas, 6 razas presentaron cromosomas B, 5 de Uruguay y 1 de Brasil (Tabla 3).

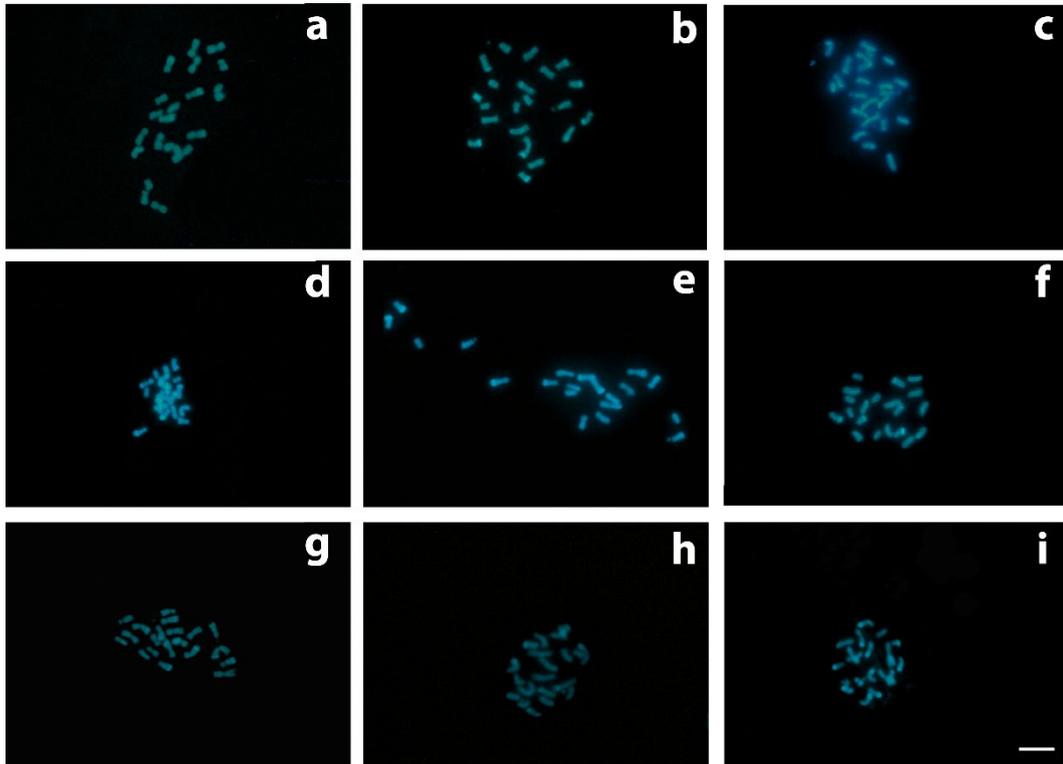
**Tabla 3***Descripción citogenética de razas de Uruguay y Brasil*

País	Raza de maíz	n	Tipo de grano	Rango de porcentaje de heterocromatina (%)	Rango de número de <i>knobs</i> ( $\bar{X}$ )	Tamaño predominante de <i>knobs</i>	Presencia de Bs
Uruguay	Amarillo dentado	3	Dentado	3,61-9,83	5-10 (7,33)	Medianos	Si
Uruguay	Blanco dentado	4	Dentado	7,33-14,09	8-12 (9,75)	Grandes	Si
Uruguay	Complejo Cateto Sulino	6	Duro	4,92-12,59	6-10 (8,17)	Medianos	Si
Uruguay	Cateto Sulino Grosso	2	Duro	2,60-17,05	5-13 (9)	Grandes	Si
Uruguay	Avatí Morotí	4	Harinoso	6,68-10,16	7-9 (7,75)	Medianos	No
Uruguay	Caingang	3	Harinoso	5,38-9,84	6-7 (6,67)	Medianos	No
Uruguay	Complejo Avatí Morotí	3	Harinoso	4,59-7,81	5-6 (5,33)	Medianos y grandes	Si
Uruguay	Complejo Morotí Caingang	6	Harinoso	4,23-10,33	6-9 (7)	Medianos	No
Uruguay	Pisingallo redondo	1	Pisingallo	14,22	12	Grandes	No
Brasil	Dente Sul Matogrossense	3	Dentado	7,51-10,28	8-11 (9,67)	Medianos	No
Brasil	Dente Paraíbano	8	Dentado	1,88-17,03	5-15 (10,38)	Medianos y pequeños	No
Brasil	Dente Riograndense	4	Dentado	8,63-14,93	7-16 (10,75)	Grandes	No
Brasil	Oito Carreiras	3	Dentado	12,50-17,34	8-11 (9,33)	Grandes	No

<b>País</b>	<b>Raza de maíz</b>	<b>n</b>	<b>Tipo de grano</b>	<b>Rango de porcentaje de heterocromatina (%)</b>	<b>Rango de número de knobs (<math>\bar{X}</math>)</b>	<b>Tamaño predominante de knobs</b>	<b>Presencia de Bs</b>
Brasil	Complejo Paraíbano	2	Duro	9,35-14,37	8-11 (9,50)	Grandes	No
Brasil	Cateto	2	Duro	6,39-6,52	5-6 (5,50)	Grandes	No
Brasil	Exótica	1	Harinoso	7,05	5	Grandes	No
Brasil	Morotí	5	Harinoso	6,25-12,35	8-10 (9)	Grandes	Si
Brasil	Pipoca redonda	3	Pisingallo	3,83-6,65	6-8 (6,67)	Medianos	No
Brasil	Pipoca redonda (Avatí Pichingá Ihú)	2	Pisingallo	9,08-14,70	7-10 (8,50)	Grandes	No
Brasil	Alho	2	Pisingallo	5,57-8,59	7-11 (9)	Medianos	No
Brasil	Alho (Avatí Pichingá)	2	Pisingallo	6,96-14,56	5-10 (7,50)	Grandes	No

## Figura 6

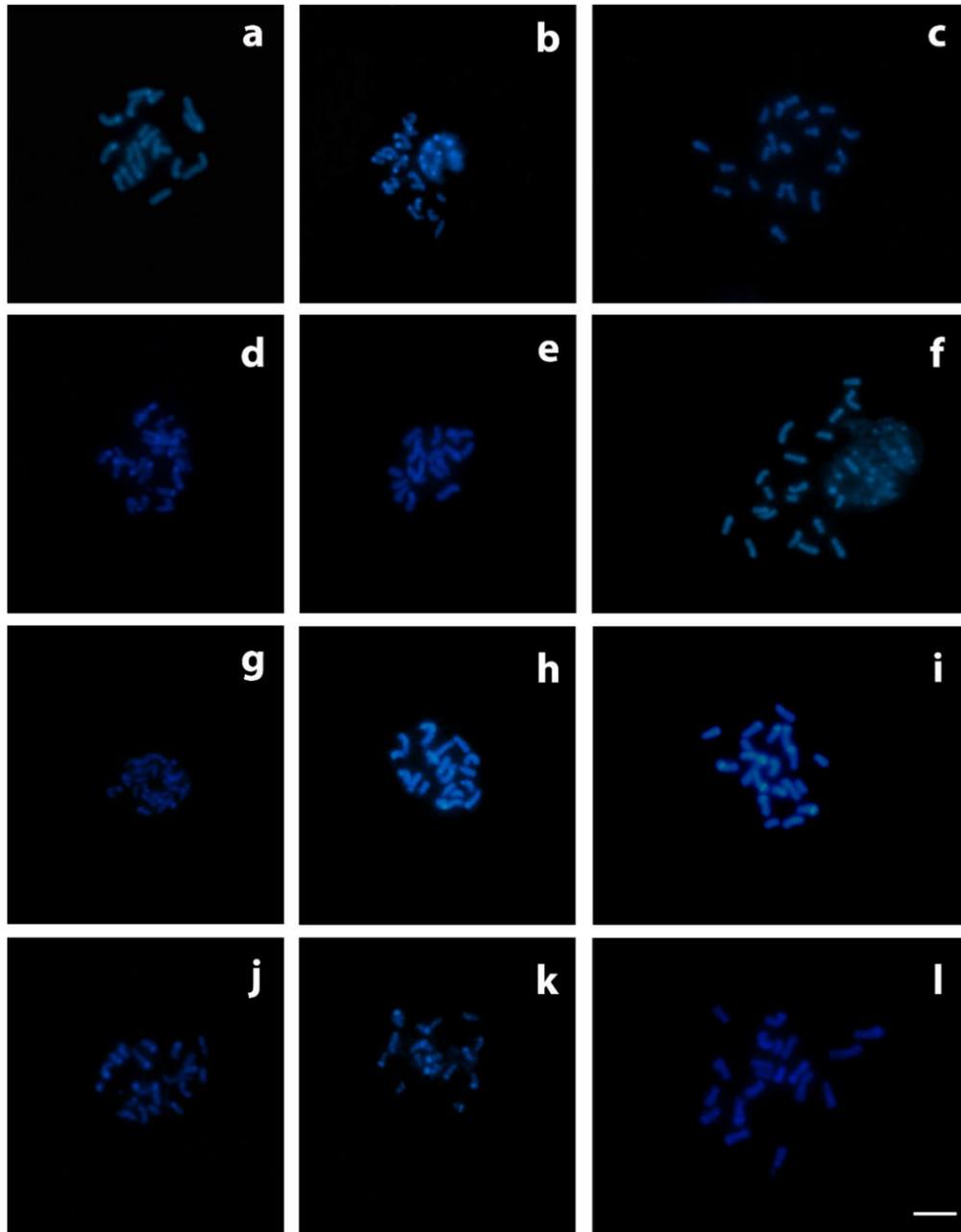
*Variabilidad en el número de knobs (DAPI+) de 9 razas de maíz de Uruguay*



*Nota.* Metafasas mitóticas con bandeo fluorescente DAPI. **a:** raza Amarillo dentado, accesión UYNN4B,  $2n=20$  (5 *knobs*). **b:** raza Blanco dentado, accesión UYSB1A,  $2n=21$  (9 *knobs*). **c:** raza Complejo Cateto Sulino, accesión UYNN6B,  $2n=21$  (9 *knobs*). **d:** raza Cateto Sulino Grosso, accesión UYNB7A,  $2n=21$  (13 *knobs*). **e:** raza Caingang, accesión UYNN2A,  $2n=20$  (7 *knobs*). **f:** raza Avatí Morotí, accesión UYNB5A,  $2n=20$  (7 *knobs*). **g:** raza Complejo Morotí Caingang, accesión UYNN1A,  $2n=20$  (7 *knobs*). **h:** raza Complejo Avatí Morotí, accesión UYNB2A,  $2n=20$  (6 *knobs*). **i:** raza Pisingallo, accesión UYER5B,  $2n=20$  (12 *knobs*). **Ref.** Barra: 10  $\mu\text{m}$ .

**Figura 7**

*Variabilidad en el número de knobs (DAPI+) de 12 razas de maíz de Brasil*



*Nota.* Metafases mitóticas con bandeo fluorescente DAPI. **a:** raza Alho, accesión MGF1C (11 *knobs*). **b:** raza Alho (Avatí Pichingá), accesión PBN8A (10 *knobs*). **c:** raza Dente Paraíbano, accesión PBR5B (15 *knobs*). **d:** raza Complexo Paraíbano, accesión PBF2A (11 *knobs*). **e:** raza Exótica, accesión PBN12A (5 *knobs*). **f:** raza Dente Riograndense, accesión RSG1A (16 *knobs*). **g:** raza Dente Sul Matogrossense, accesión MSX2B (11 *knobs*). **h:** raza Cateto, accesión RSZ1A (5 *knobs*). **i:** raza Morotí, accesión MSJ2B (9 *knobs*). **j:** raza Oito Carreiras,

accesión RSF2H (11 *knobs*). **k**: raza Pipoca redonda (Avatí Pichingá), accesión RSI3C (10 *knobs*). **l**: raza Pipoca redonda, accesión RSX6A (6 *knobs*). **(a-l)**  $2n=20$ . **Ref.** Barra: 10  $\mu\text{m}$ .

#### 4.4. FRECUENCIA DE CROMOSOMAS B EN URUGUAY Y BRASIL

Este trabajo es el primer registro de cromosomas B (Bs) para un conjunto de razas de Brasil y Uruguay. La presencia y frecuencia de Bs ha sido ampliamente utilizada para la caracterización de la diversidad de maíz (González et al., 2013; González & Poggio, 2021; McClintock et al., 1981; Poggio et al., 1998; Rosado et al., 2009). En este trabajo, se detectaron estos cromosomas en ambos países, pero con diferentes frecuencias.

Las razas de Uruguay que presentaron Bs fueron: Blanco Dentado, Amarillo Dentado, Complejo Cateto Sulino, Cateto Sulino Grosso y Complejo Avatí Morotí. Para Brasil solamente la raza Morotí presentó B. Estas razas corresponden a los siguientes tipos de grano: dentados, duros y harinosos, respectivamente.

Se encontraron Bs (1-3) en 8 individuos de Uruguay mientras que en Brasil se encontró solo un individuo con presencia de estos cromosomas. Dentro de una misma accesión se encontraron individuos con presencia y otros con ausencia de Bs, a excepción de la accesión UYNN6B de la raza Complejo Cateto Sulino, donde los 3 individuos analizados presentaron 1 a 2 Bs. La frecuencia de razas de Uruguay con Bs fue de 0,25 y de 0,025 para razas de Brasil. Las razas de Uruguay presentaron más presencia de Bs. (Figura 8 y Tabla A7).

McClintock et al. (1981) trabajaron con razas de toda América, en el estudio de 17 razas de Brasil y 1 de Uruguay (Cateto), no registraron Bs para estas regiones de Sudamérica. Por otro lado, estos autores hallaron una alta frecuencia de Bs en la región andina de Bolivia, Argentina, Chile y Ecuador.

En varios trabajos se ha constatado la presencia de Bs en altas frecuencias en regiones andinas de Argentina con altitudes superiores a 1500 m. Rosato et al. (1998) trabajaron con 13 razas de maíz cultivadas a diferentes altitudes del norte de Argentina y encontraron que de 21 variedades criollas, 19 tenían presencia de Bs (de 1 a 8 Bs). Poggio et al. (1998) trabajaron en el estudio del contenido de ADN, relacionado a porcentaje de heterocromatina, número de *knobs*, Bs y altitud, con 21 variedades criollas de maíz de 5 provincias de Argentina. Estos autores encontraron

que individuos con Bs presentaban menor número de *knobs*. En otro trabajo, Lia et al. (2007) trabajaron con 6 razas cultivadas a diferentes altitudes (de 910 a 3000 m sobre el nivel del mar) en base a métodos moleculares y estimación de número de Bs. Todos los autores mencionados previamente encontraron una correlación positiva y significativa entre el número de Bs y la altitud del cultivo en razas de maíz del Norte de Argentina.

Según un estudio reciente, González y Poggio (2021) encontraron evidencia de que el tamaño del genoma, el porcentaje de heterocromatina y la frecuencia de Bs está correlacionado con la altitud del cultivo de maíz, en base a análisis con razas de maíz de Bolivia y datos de estudios previos de razas del Noroeste Argentino. En sus resultados, encontraron una correlación negativa entre la frecuencia de Bs, el número de *knobs* y porcentaje de heterocromatina; ante la ausencia de Bs, los *knobs* fueron más numerosos y de mayor tamaño y ante mayores frecuencias de Bs, el porcentaje de heterocromatina baja. Además, la frecuencia de estos cromosomas supernumerarios fue significativamente más alta (81,8%) en condiciones de alturas mayores a 3000 m. Esto no coincide con los resultados obtenidos en el presente trabajo donde se encontraron Bs en accesiones con 6 a 13 *knobs* y porcentajes de heterocromatina variables entre 5,12% y 17,05%. Además, en todos los individuos analizados con Bs, los tamaños de los *knobs* fueron medianos a grandes.

Fourastié et al. (2017), en su estudio de 4 razas del Noroeste de Argentina, revelaron variación en número (0-7) y medias de Bs con variaciones entre accesiones. Estos autores reportaron que la frecuencia y dosis de Bs está fuertemente influenciada por la composición genotípica de razas de maíz de Argentina. Además, encontraron una correlación negativa entre el porcentaje de heterocromatina de los cromosomas A y la frecuencia de Bs.

La presencia de Bs en Uruguay, con una frecuencia de 25% es una excepcionalidad en las tierras bajas de Sudamérica. Una de las posibles explicaciones para las diferencias en frecuencias de Bs entre ambos países encontradas en el presente trabajo, puede deberse a rutas migratorias de ambas distribuciones, que posiblemente hayan estado en contacto y trasladado variedades criollas para su posterior conservación y uso.

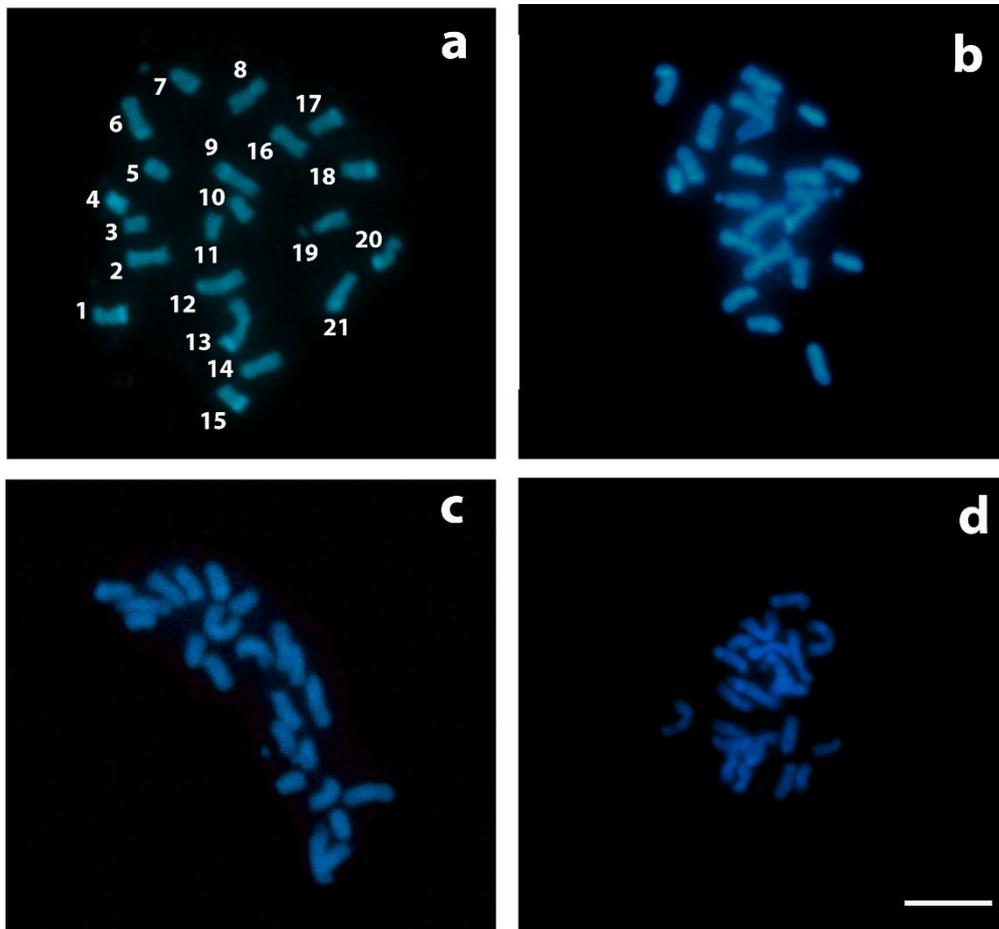
En el caso de Brasil, el único individuo con presencia de B fue colectado en Mato Grosso do Sul, estado de Brasil que hace frontera con Paraguay y Bolivia, lo cual, podría indicar que hubo flujo génico.

Freitas y Bustamante (2013) analizaron 45 muestras de maíz de poblaciones indígenas de Brasil y Paraguay, 7 muestras arqueológicas de maíz del estado de Minas Gerais, Brasil y datos de bibliografía de muestras recogidas en Mesoamérica y de la región andina. Mediante estudios moleculares en base a extracciones de ADN, estos autores postularon que las regiones bajas y altas se encuentran relativamente aisladas la una de la otra, con excepción de algunas regiones en las que pudo haber contacto entre ellas: desde el norte de Chile, Paraguay hasta el sur de Brasil. Este trabajo, podría ayudar a entender la presencia de Bs en Uruguay y Brasil.

En Uruguay y Brasil se accedió y trabajó con una proporción baja de las variedades de cada raza correspondientes a la colección núcleo del proyecto “Razas de maíz de las tierras bajas de América del Sur de Brasil y Uruguay”. En Uruguay, se analizó un 33% de maíces harinosos, 23% de dentados, 28% de duros y 33% de pisingallos. Cuatro de ocho individuos de maíces duros analizados presentaron Bs, tres de siete individuos dentados presentaron Bs y uno de 16 harinosos con B; siendo duros y dentados los que tienen mayor frecuencia de Bs. La ausencia de Bs en pisingallos puede deberse a que se analizó solamente un individuo de una accesión y por lo tanto, ampliar el número de individuos analizados probablemente podría llevar a otro resultado.

### Figura 8

*Cromosomas metafásicos con bandeo fluorescente DAPI con presencia de cromosomas B de Uruguay y Brasil*



*Nota.* **a:** raza Blanco dentado, accesión UYSB1A de Uruguay ( $2n=20 + 1B$ ). **b:** raza Complejo Cateto Sulino, accesión UYNN6B de Uruguay ( $2n=20 + 1B$ ). **c:** raza Complejo Avati Moroti, accesión UYNB2A de Uruguay ( $2n=20 + 3B$ ). **d:** raza Moroti, accesión MSJ2B de Brasil ( $2n=20 + 1B$ ). **Ref.** Números indican solamente el conteo de cromosomas, con la presencia de cromosomas B como está indicado en la letra **a**. Barras: **a-d:** 10  $\mu$ m.

## 5. CONCLUSIONES

Las variedades criollas de maíz de Brasil y Uruguay se diferenciaron en el número de *knobs* cuando se analizó por tipo de grano, siendo los maíces dentados los que presentaron mayor número de *knobs* respecto a los harinosos.

Las variedades criollas de ambos países no mostraron diferencias significativas en el porcentaje de heterocromatina, a pesar de presentar una correlación positiva con el número de *knobs*. El porcentaje de heterocromatina no solo está explicado por el número, sino que también por el tamaño de *knobs*, registrándose en este trabajo *knobs* mayormente medianos a grandes.

Hay gran diversidad en los parámetros citogenéticos a nivel de país por la presencia de Bs, también en cuanto a tipos de grano e incluso dentro de accesiones de una misma raza. Existe variabilidad intragenómica, también en cuanto a número de *knobs* y porcentaje de heterocromatina entre accesiones de una misma raza.

Es la primera vez que se ha registrado la presencia de cromosomas B para Uruguay y Brasil (países que son clasificados como regiones bajas) y hay diferencias significativas en las frecuencias entre ambos países. Lo que permite inferir que estas diferencias pueden estar asociadas con la ruta de dispersión de maíz hasta las tierras bajas.

Este trabajo contribuye al conocimiento de la diversidad genética de las variedades criollas y la importancia de mantenerlas y conservarlas. Como perspectivas para futuros estudios, un análisis con mayor número de muestras y el uso de la técnica de FISH podría permitir la detección más precisa de los *knobs* pequeños, de regiones centroméricas y cromosomas B. Todo esto podría contribuir para la consecuente realización de cariotipos y así ampliar la caracterización citogenética.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Ananiev, E. V., Phillips, R. L., & Rines, H. W. (1998). A *knob*-associated tandem repeat in maize capable of forming fold-back DNA segments: Are chromosome *knobs* megatransposons? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(18), 10785-10790. <https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.95.18.10785>
- Anderson, E., & Cutler, H. (1942). Races of *Zea mays*: Their recognition and classification. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 29(2), 69-89. <https://www.jstor.org/stable/2394331>
- Beadle, G. W. (1980). The ancestry of corn. *Science American*, 242(1), 112-119. <http://www.jstor.org/stable/24966237>
- Birchler, J. A., & Yang, H. (2021). The supernumerary B chromosome of maize: Drive and genomic conflict. *Open Biology*, 11(11), Artículo e210197. <https://royalsocietypublishing.org/doi/full/10.1098/rsob.210197>
- Brieger, F. G., Gurgel, J. T. A., Paterniani, E., Blumenchein, A., & Alleoni, M. R. (1958). *Races of maize in Brazil and other eastern South America Countries*. National Academic of Sciences.
- Camacho Villa, T. C., Maxted, N., Scholten, M., & Ford-Lloyd, B. (2005). Defining and identifying crop landraces. *Plant Genetic Resources*, 3(3), 373-384. <https://doi.org/10.1079/PGR200591>
- Carvalho, R. F., Aguiar-Perecin, M. L. R., Clarindo, W. R., Fristche-Neto, R., & Mondin, M. (2022). A heterochromatic *knob* reducing the flowering time in maize. *Frontiers in Genetics*, 12, Artículo e799681. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.799681>
- Caspersson, T., Farber, S., Foley, G. E., Kudynowski, J., Modest, E. J., Simonsson, E., Wagh, U., & Zech, L. (1968). Chemical differentiation along metaphase chromosomes. *Experimental Cell Research*, 49(1), 219-222. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(68\)90538-7](https://doi.org/10.1016/0014-4827(68)90538-7)

- Costa, F. M., Silva, N. C., Vidal, R., Clement, C. R., Freitas, F., Alves-Pereira, A., Petrolí, C. D., Zucchi, M. I., & Veasey, E. A. (2022). Maize dispersal patterns associated with different types of endosperm and migration of indigenous groups in lowland South America. *Annals of Botany*, *129*(6), 737-751. <https://doi.org/10.1093/aob/mcac049>
- Cutler, H. C. (1946). Races of maize in South America. *Botanical Museum Leaflets*, *12*(8), 257-299. <https://www.jstor.org/stable/41762091>
- De María, F., Fernández, G., & Zoppolo, G. (1979) *Caracterización agronómica y clasificación racial de las muestras de maíz colectadas en Uruguay bajo el Proyecto IBPGR y Facultad de Agronomía* [Trabajo final de grado, Universidad de la República]. Colibri. <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/handle/20.500.12008/24539>
- Doebley, J. F. (1990). Molecular evidence and the evolution of maize. *Economic Botany*, *44*, 6-27. <https://doi.org/10.1007/BF02860472>
- Fernández, G., Frutos, E., & Maiola, C. (1983). *Catálogo de recursos genéticos de maíz de Sudamérica*. INTA.
- Fourastié, M. F., Gottlieb, A. M., Poggio, L., & González, G. E. (2017). Are cytological parameters of maize landraces (*Zea mays* ssp. *mays*) adapted along an altitudinal cline? *Journal of Plant Research*, *131*, 285-296. <https://doi.org/10.1007/s10265-017-0996-3>
- Freitas, F. O., & Bustamante, P. G. (2013). Amazonian maize: Diversity, spatial distribution and historical-cultural diffusion. *Tipiti: Journal of the Society for the Anthropology of Lowland South America*, *11*(7), 60-65. <https://digitalcommons.trinity.edu/tipiti/vol11/iss2/7/>
- Gill, B. S., & Kimber, G. (1974). The Giemsa C-banded karyotype of rye. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *71*(4), 1247-1249. <https://doi.org/10.1073/pnas.71.4.1247>
- González, G. E., Fourastié, M. F., & Poggio, L. (2013). Relevancia del número y composición de secuencias de los nudos cromosómicos en la caracterización de maíz y teocintle. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *36*(2), 127-135. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v36n2/v36n2a5.pdf>

- González, G. E., & Poggio, L. (2021). Intragenomic conflict between *knob* heterochromatin and B chromosomes is the key to understand genome size variation along altitudinal clines in maize. *Plants*, *10*(9), Artículo e1859. <https://doi.org/10.3390/plants10091859>
- Gutiérrez Chacón, L. (2001). *Comparación de la clasificación racial con una clasificación numérica en la colección de maíz del Uruguay* [Trabajo final de grado]. Universidad de la República.
- Herrera, J. C. (2007). La citogenética molecular y su aplicación en el estudio de los genomas vegetales (Molecular cytogenetics in plant genome analysis). *Agronomía Colombiana*, *25*(1), 26-35. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-99652007000100004&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-99652007000100004&script=sci_arttext)
- Honfi, A. I., Bolzán, A. D., & Daviña, J. R. (2017). Dimensión cromosómica. *Ciencia e Investigación*, *67*(1), 5-24. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/68433>
- Instituto Nacional de Semillas. (2014, 10 de noviembre). *Resolución n° 158/014*. <https://www.inase.uy/Normativa/Resoluciones/158.pdf>
- Jones, N., & Houben, A. (2003). B chromosomes in plants: Escapees from the A chromosome genome? *Trends in Plant Science*, *8*(9), 417-423. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(03\)00187-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(03)00187-0)
- Kato, T. A., Lamb, J. C., & Birchler, J. A. (2004). Chromosome painting using repetitive DNA sequences as probes for somatic chromosome identification in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*(37), 13554-13559. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403659101>
- Kato, T. A., Mapes, C., Mera, L. M., Serratos, J. A., & Bye, R. 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.

- Kirov, I., Khrustaleva, L., Laere, K. V., Soloviev, A., Sofie, M., Romanov, D., & Fesenko, I. (2017). DRAWID: User-friendly java software for chromosome measurements and idiogram drawing. *Comparative Cytogenetics*, *11*(4), 747-757.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5740402/>
- Kistler, L. M., Maezumi, S. Y., de Souza, J. G., Przelomska, N. A. S., Costa, F. M., Smith, O., Loisel, H., Ramos-Madrugal, J., Wales, N., Ribeiro, E., Grimaldo, C., Prous, A. P., Gilbert, M., Thomas P., de Oliveira, F. F., & Allaby, R. G. (2018). Multi-proxy evidence highlights a complex evolutionary legacy of maize in South America. *Science*, *362*(6420), 1309-1313. <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aav0207>
- Lia, V. V., Confalonieri, V. A., & Poggio, L. (2007). B chromosome polymorphism in maize landraces: Adaptive vs. demographic hypothesis of clinal variation. *Genetics Society of America*, *177*(2), 895-904.  
<https://doi.org/10.1534/genetics.107.075440>
- Linde-Laursen, I. B. (1984). Giemsa C-banding of barley chromosomes. *Hereditas*, *100*(2), 219-223.
- Matsuoka, Y., Vigouroux, Y., Goodman, M. M., Sánchez, J. J., Buckler, E., & Doebley, J. F. (2002). A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *99*(9), 6080-6084.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.052125199>
- McClintock, B. (1929). Chromosome morphology in *Zea mays*. *Science*, *69*(1798), 629.  
<https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.69.1798.629>
- McClintock, B. (1951). Chromosome organization and genic expression. *Cold Spring Harbour Symposia on Quantitative Biology*, *16*, 13-47.  
<https://symposium.cshlp.org/content/16/13.short>
- McClintock, B. (1960). Chromosome constitutions of Mexican and Guatemalan races of maize. En J. Moore (Ed.), *Genes cells and organisms* (pp. 461-472). Carnegie Institution of Washington.  
<https://repository.cshl.edu/id/eprint/34628/>

- McClintock, B., Kato, Y., & Bluemenshein, A. (1981). *Chromosome constitution of races of maize*. Colegio de Postgraduados.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2011). *Semillas en emergencias: Manual técnico*.  
<https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/29be0477-eb32-4a34-a341-9b75b5ffe577/content>
- Paterniani, E., & Goodman, M. M. (1977). *Races of maize in Brazil and adjacent areas*. CIMMYT.  
[https://www.ars.usda.gov/ARUserFiles/50301000/Races\\_of\\_Maize/Raza\\_Brazil\\_0\\_Book.pdf](https://www.ars.usda.gov/ARUserFiles/50301000/Races_of_Maize/Raza_Brazil_0_Book.pdf)
- Peacock, W. J., Dennis, E. S., Rhoades, M. M., & Pryor, A. J. (1981). Highly repeated DNA sequence limited to *knob* heterochromatin in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 78(7), 4490-4494. <https://doi.org/10.1073/pnas.78.7.4490>
- Perales, H., & Golicher, D. (2014). Mapping the diversity maize races in Mexico. *PLOS ONE*, 9(12), Artículo e114657.  
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0114657>
- Poggio, L., & Naranjo, C. A. (2004). Citogenética. En V. Echenique, C. Rubinstein, & L. Mroginski (Eds.), *Biotecnología y mejoramiento vegetal* (pp. 69-79). INTA.  
<https://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/BiotecnologiaymejoramientovegetalINTA2004.pdf>
- Poggio, L., Rosato, M., Chiavarino, A. M., & Naranjo, C. A. (1998). Genome size and environmental correlations in maize (*Zea mays* ssp. *mays*, Poaceae). *Annals of Botany*, 82, 107-115. <https://doi.org/10.1006/anbo.1998.0757>
- Randolph, L. F. (1941). Genetic characteristics of the B chromosomes in maize. *Genetics*, 26(6), 608-631. <https://doi.org/10.1093/genetics/26.6.608>
- Realini, M. F. (2017). *Variabilidad citogenética de los maíces guaraníes del Noreste de Argentina: Caracterización cariotípica, tamaño del genoma y correlatos fenotípicos* [Disertación doctoral]. Universidad de Buenos Aires.

- Realini, M. F., Poggio, L., Cámara-Hernández, J., & González, G. E. (2015). Intra-specific variation in genome size in maize: Cytological and phenotypic correlates. *AOB Plants*, 8, Artículo e138.  
<https://doi.org/10.1093/aobpla/plv138>
- Realini, M. F., Poggio, L., Cámara Hernández, J., & González, G. E. (2018). Exploring karyotype diversity of Argentinian Guaraní maize landraces: Relationship among South American maize. *PLOS ONE*, 13(6), Artículo e0198398.  
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0198398>
- Reyes, C. P. (1990). *El maíz y su cultivo*. AGT.
- Rosado, T. B., Clarindo, W. R., & Carvalho, C. R. (2009). An integrated cytogenetic, flow and image cytometry procedure used to measure the DNA content of Zea mays A and B chromosomes. *Plant Science*, 176(1), 154-158. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.10.007>
- Rosato, M., Chiavarino, A. M., Naranjo, C. A., Hernandez, J. C., & 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(2), 168-174.  
<https://bsapubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2307/2446305>
- Serratos, J. A. (2009). *El origen y la diversidad del maíz en el continente americano*. Greenpeace.
- Silva, N. C., Costa, F. M., Vidal, R., & Veasey, E. A. (2020). *Maíces de las tierras bajas de América del Sur y conservación de la agrobiodiversidad en Brasil y Uruguay*. Atenea.
- Silva, N. C., Vidal, R., Costa, F. M., & Veasy, E. A. (2021). *Razas de maíz de Brasil y Uruguay: Diversidad y distribución en las tierras bajas de América del Sur*. Atenea.
- Sturtevant, E. L. (1899). *Varieties of corn*. USDA.

- Tito, C. M., Poggio, L., & Naranjo, C. A. (1991). Cytogenetics studies in the genus *Zea*: DNA content and heterochromatin in species and hybrids. *Theoretical and Applied Genetics*, 83, 58-64.  
<https://doi.org/10.1007/BF00229226>
- Vaio, M., Gardner, A., Speranza, P., Emshwiller, E., & Guerra, M. (2016). Phylogenetic and cytogenetic relationships among species of *Oxalis* section *Articulatae* (Oxalidaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 302, 1253-1265. <https://doi.org/10.1007/s00606-016-1330-6>
- Van Heerwaarden, J., Doebley, J., Briggs, W. H., Glaubitz, J. C., & Goodman, M. M. (2011). Genetic signals of origin, spread, and introgression in a large sample of maize landraces. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(3), 1088-1092.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1013011108>
- Vosa, C. G., & Marchi, P. (1972). Quinacrine fluorescence and Giemsa staining in plants. *Nature New Biology*, 237, 191-192.  
<https://doi.org/10.1038/newbio237191a0>
- Yang, N., Wang, Y. B., Liu, X. G., Jin, M. L., Vallebuena-Estrada, M., Calfee, E., Chen, L., Dilkes, B. P., Gui, S. T., Fan, X. M., Harper, T. K., Kennett, D. J., Li, W., Ding, J., Chen, Z., Luo, J., Mambakkam, S., Menon, M., Snodgrass, S., ... Ross-Ibarra, J. (2023). Two teosintes made modern maize. *Science*, 382(6674), Artículo eadg8940.  
<https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.adg8940>

## 7. ANEXOS

**Tabla A1**

*Análisis de comparación de medias para porcentaje de heterocromatina para Uruguay y Brasil*

<b>País</b>	<b>N</b>	<b>Medias</b>	<b>D.E</b>	<b>p</b>
<b>Uruguay</b>	32	7,97	3,40	0,1391
<b>Brasil</b>	39	9,20	3,93	

*Nota.* Hay diferencias significativas cuando  $p < 0,05$ .

**Tabla A2**

*Análisis de comparación de medias para porcentaje de heterocromatina analizada por tipo de grano*

<b>Tipo de grano</b>	<b>N</b>	<b>Medias</b>	<b>D.E</b>	<b>p</b>
<b>Dentado</b>	25	9,47	4,31	0,3779
<b>Duro</b>	12	8,87	4,12	
<b>Harinoso</b>	22	7,65	2,49	
<b>Pisingallo</b>	12	8,53	3,93	

*Nota.* Hay diferencias significativas cuando  $p < 0,05$ .

**Tabla A3**

*Análisis de comparación de medias para número de knobs analizado por tipo de grano*

<b>Tipo de grano</b>	<b>N</b>	<b>Medias</b>	<b>D.E</b>	<b>p</b>
<b>Dentado</b>	25	9,76	3,11	0,025
<b>Duro</b>	12	8,08	2,43	
<b>Harinoso</b>	22	7,23	1,48	
<b>Pisingallo</b>	12	8,33	2,23	

*Nota.* Hay diferencias significativas cuando  $p < 0,05$ .

**Tabla A4**

*Análisis de comparación de medias para número de knobs para los 4 tipos de grano*

<b>Tipo de grano</b>	<b>Medias</b>	
<b>Harinoso</b>	<b>7,23</b>	<b>B</b>
<b>Duro</b>	<b>8,08</b>	<b>A B</b>
<b>Pisingallo</b>	<b>8,33</b>	<b>A B</b>
<b>Dentado</b>	<b>9,76</b>	<b>A</b>

*Nota.* Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

**Tabla A5**

*Análisis descriptivo de N, medias, desvío estándar, mínimo y máximo para número de knobs*

<b>Tipo de grano</b>	<b>N</b>	<b>Medias</b>	<b>D.E</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>
<b>Dentado</b>	25	9,76	3,11	5	16
<b>Duro</b>	12	8,08	2,43	5	13
<b>Harinoso</b>	22	7,23	1,48	5	10
<b>Pisingallo</b>	12	8,33	2,23	5	12

**Tabla A6**

*Análisis de comparación de medias para número de knobs para Uruguay y Brasil*

<b>País</b>	<b>N</b>	<b>Medias</b>	<b>D.E</b>	<b>p</b>
<b>Uruguay</b>	32	7,78	2,09	0,068
<b>Brasil</b>	39	9,00	2,87	

*Nota.* Hay diferencias significativas cuando  $p < 0,05$ .

**Tabla A7**

*Análisis de Chi cuadrado de Pearson para las variables: presencia de Bs por País*

<b>Valor de Chi cuadrado de Pearson</b>	<b>p-valor</b>
7,99	0,0047

*Nota.* No hay independencia entre las variables si  $p < 0,05$ .

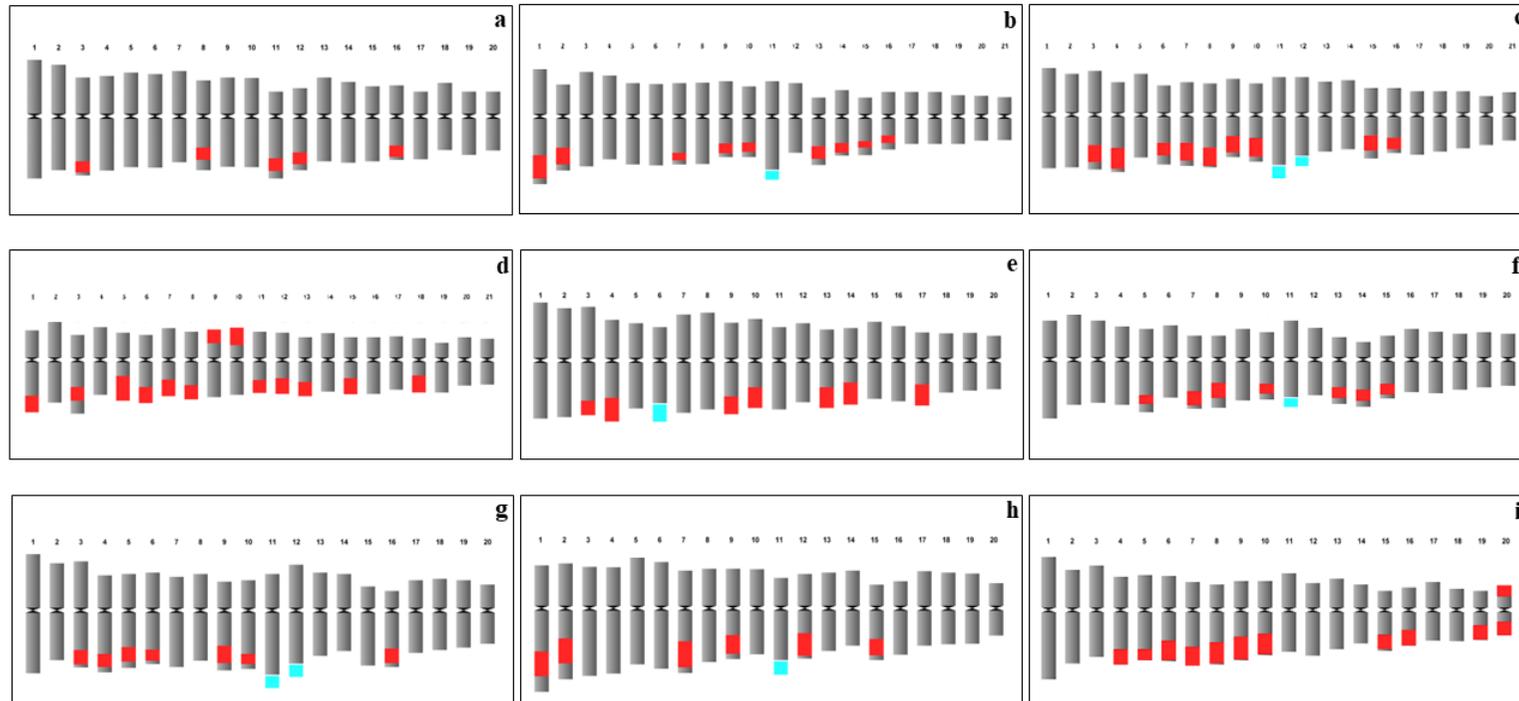
**Tabla A8**

*Análisis de correlación de Pearson para número de knobs y porcentaje de heterocromatina*

<b>Variable 1</b>	<b>Variable 2</b>	<b>N</b>	<b>Pearson</b>	<b>p-valor</b>
Número de <i>knobs</i>	Porcentaje de heterocromatina	71	0,72	0,0001

## Figura A1

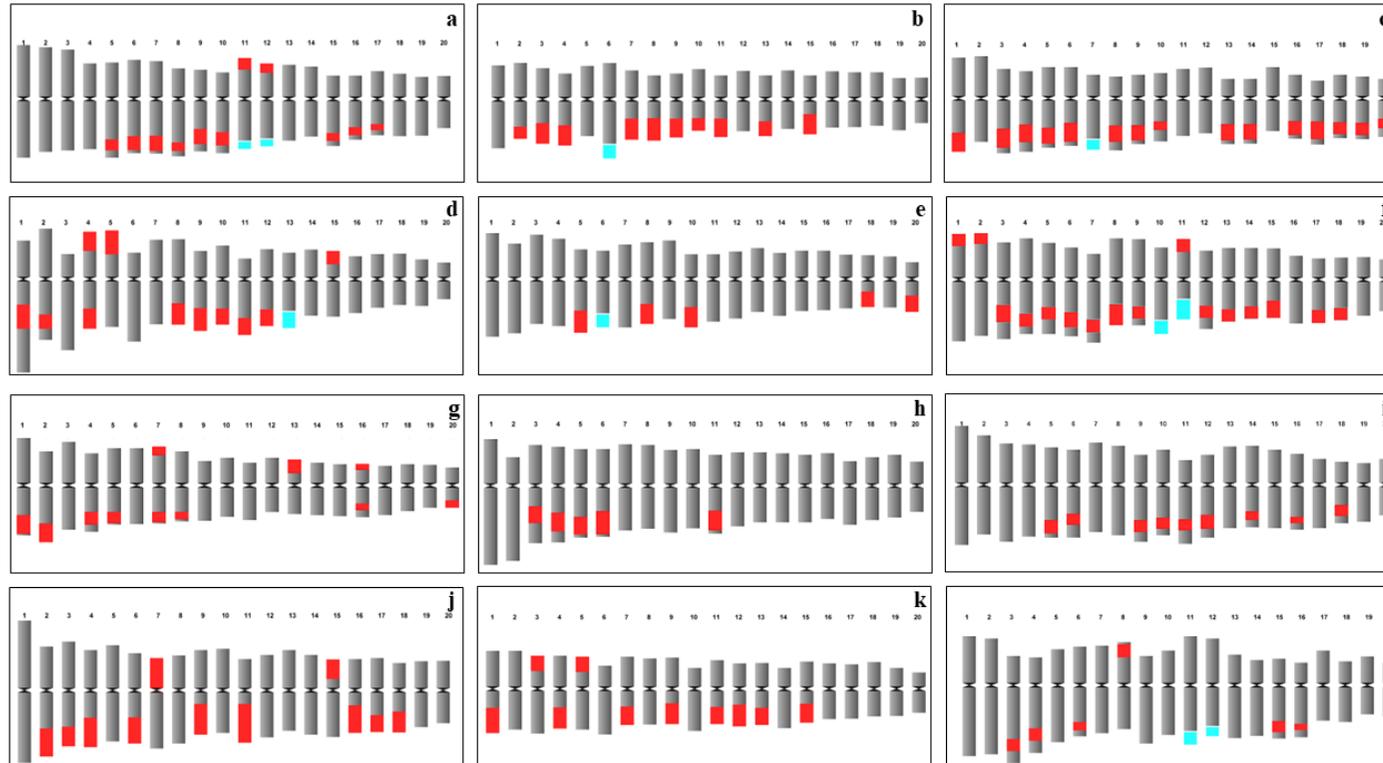
*Idiogramas representativos de cromosomas metafásicos de razas de maíz de Uruguay de Figura 4*



*Nota.* **a:** raza Amarillo dentado, accesión UYNN4B. **b:** raza Blanco dentado, accesión UYSB1A. **c:** raza Complejo Cateto Sulino, accesión UYNN6B. **d:** raza Cateto Sulino Grosso, accesión UYNB7A. **e:** raza Caingang, accesión UYNN2A. **f:** raza Avatí Morotí, accesión UYNB5A. **g:** raza Complejo Morotí Caingang, accesión UYNN1A. **h:** raza Complejo Avatí Morotí, accesión UYNB2A. **i:** raza Pisingallo, accesión UYER5B. **Ref.** En rojo: *knobs*, en celeste: constricción secundaria del par cromosómico 6, cuando visible.

## Figura A2

Idiogramas representativos de cromosomas metafásicos de razas de maíz de Brasil de Figura 5



**Nota.** **a:** raza Alho, accesión MGF1C. **b:** raza Alho (Avatí Pichingá), accesión PBN8A. **c:** raza Dente Paraíbano, accesión PBR5B. **d:** raza Complexo Paraíbano, accesión PBF2A. **e:** raza Exótica, accesión PBN12A. **f:** raza Dente Riograndense, accesión RSG1A. **g:** raza Dente Sul Matogrossense, accesión MSX2B. **h:** raza Cateto, accesión RSZ1A. **i:** raza Morotí, accesión MSJ2B. **j:** raza Oito Carreiras, accesión RSF2H. **k:** raza Pipoca redonda (Avatí Pichingá), accesión RSI3C. **l:** raza Pipoca redonda, accesión RSX6A. **Ref.** En rojo: *knobs*, en celeste: constricción secundaria del par cromosómico 6, cuando visible.