

Establecimiento de un banco de semillas en UVG-Altiplano y estudio preliminar a nivel molecular de la diversidad del maíz criollo almacenado en el banco

Silvana Maselli, Andrea Navas & Fátima Melgar

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias y Humanidades, Universidad del Valle de Guatemala

RESUMEN: Siguiendo normas internacionales para el manejo de semillas en Bancos de Germoplasma y con fines de docencia y conservación, se estableció un banco local de semillas nativas (criollas) de maíz y frijol en la sede de UVG-Altiplano. La colección almacenada en el banco incluye 209 muestras de maíz y 23 de frijol de los 16 Municipios de Sololá, documentadas en una base de datos. El establecimiento del banco incluyó el fortalecimiento de capacidades, a través de talleres teórico prácticos sobre el manejo de las semillas en bancos, dirigido a estudiantes de la carrera de Ingeniería Agroforestal, y al personal técnico del proyecto UVG-USDA, empleando un manual elaborado específicamente para esta actividad. La capacitación a agricultores incluyó tres talleres sobre: buenas prácticas agrícolas, conservación de la agrobiodiversidad, calidad y almacenamiento de semillas para bancos comunitarios. Las muestras almacenadas de maíz, reportadas como de alto rendimiento, se emplearon en un estudio preliminar de diversidad, con fines de uso y conservación, empleando cinco marcadores moleculares microsatélites (SSR). Se identificaron un total de 23 alelos para los cinco loci analizados, y por ser un estudio preliminar con un número insuficiente de muestras por Municipio, para aplicar los parámetros de diversidad genética, se presentan y discuten las tendencias encontradas en las frecuencias alélicas y su distribución.

PALABRAS CLAVE: Banco de Semillas, fortalecimiento de capacidades, diversidad molecular, marcadores microsatélites (SSR).

Seed Bank establishment at UVG-Altiplano, and a preliminary maize, landraces molecular diversity study, of the accessions stored at the Bank

ABSTRACT: The establishment of a Seed Bank in UVG-Altiplano, for teaching and conservation purposes, followed international seed handling techniques for seed banks. The Seed Bank collection stores 209 accessions of native maize and 23 accessions of beans from the 16 Sololá Communities. The accession's passport data was documented in a data base. Capacity building activities were held through workshops for students and technical staff, covering topics related to seed handling and conservation in a

Seed Bank; using a manual specially produced for this purpose. Farmers from two Sololá communities attended three workshops related to good farming practices, agrobiodiversity conservation and seed quality for Communal Seed Bank's storing. High yield stored maize accessions were used to conduct a preliminary diversity study, for conservation and use purposes, using five microsatellites molecular markers (SSR). A total of 23 alleles were identified in the analyzed five loci. Due to an insufficient sample number per Community, no genetic parameters were applied to the analysis, but the tendencies found in the allelic frequencies and their distribution, are discussed.

KEYWORDS: Seed Bank, capacity building, molecular diversity, microsatellites markers (SSR)

Introducción

Dentro del componente milpa del proyecto UVG-USDA se consideró el establecimiento de un banco de semillas con fines de docencia, y para conservar la colección de trabajo de maíz y frijol del proyecto.

El establecimiento de bancos de semillas es considerado dentro de las medidas estratégicas para enfrentar el cambio climático y la inseguridad alimentaria. Actualmente Guatemala carece de un Plan Nacional de conservación, uso y disponibilidad de semillas en caso de desastres; sin embargo el tema es considerado como prioritario, dentro de las recomendaciones del Segundo Informe Nacional sobre el estado de los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (FAO 2008); el Informe Mundial sobre estos recursos (FAO 2010) y el Plan de Acción Mundial para la conservación y utilización sostenible de los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura de la FAO (FAO 2011).

La agrobiodiversidad forma parte de los recursos fitogenéticos que sostienen la base de la seguridad alimentaria en América Latina. Para conservar esta diversidad es necesario desarrollar capacidades sobre la importancia que tiene la conservación en bancos y reservas de semillas, para restablecer los sistemas agrícolas, en casos de emergencias ocasionadas por desastres naturales.

Para contribuir a generar opciones para enfrentar los riesgos del cambio climático a la seguridad alimentaria, a través de la conservación de la agrobiodiversidad nativa, se propuso el establecimiento del banco de semillas de UVG-Altiplano. Los objetivos del banco son: la conservación de las muestras, el desarrollo de capacidades y transferencia de tecnología en el manejo de semillas en bancos; dirigida a estudiantes, agricultores y personal técnico.

Para conservar la agrobiodiversidad nativa y los recursos fitogenéticos, es necesario conocer qué y cuanta diversidad genética se está conservando. El uso de técnicas de la biología molecular, como los marcadores microsatélites, SSR, pueden contribuir para estudiar, conservar y usar la diversidad genética del maíz nativo (criollo), permitiendo conocer cómo está distribuida esta diversidad en los Departamentos de Guatemala. El conocimiento base de la estructura genética de las colecciones almacenadas en bancos, es importante para la selección de germoplasma para los programas de mejoramiento nacionales, y para generar nuevas variedades con tolerancia a sequía y enfermedades.

En términos de manejo de bancos de germoplasma, debe enfatizarse la conservación de la diversidad genética, en loci claves que controlan características importantes de interés agronómico. Mientras los estudios comparativos aumentan y más características son identificadas genéticamente, la gama de genes funcionales empleados para analizar el germoplasma, también aumentarán. Las técnicas analíticas que ayudarán a revelar la selección en estos loci serán importantes para seleccionar accesiones únicas a incluir dentro de las colecciones *ex situ*, y serán herramientas importantes para asegurarse que la diversidad genética se mantenga a niveles aceptables en el tiempo (Richards 2004).

Para conocer la diversidad, a nivel molecular de las muestras de maíz nativo (criollo) almacenadas en el Banco de semillas de UVG-Altiplano, se realizó un estudio preliminar, empleando cinco marcadores moleculares microsatélites, SSR. Debido al tamaño de las muestras colectadas por Municipio (2-7), no se pudo hacer un análisis estadístico empleando parámetros de diversidad genética, pero si fue posible explorar la diversidad de los alelos, su frecuencia y distribución en los Municipios donde se encuentran. La información que se generó es parte de los pasos recomendados para la conservación y uso posterior de germoplasma nativo de maíz, en programas de mejoramiento genético; además de contribuir al conocimiento de la diversidad genética del maíz en Guatemala.

Métodos

Identificar y documentar la diversidad de maíz y frijol en el área de cobertura del proyecto

La información de las muestras de maíz y frijol proporcionadas por agricultores de los 16 Municipios de Sololá (datos de pasaporte), se integró y documentó en una base de datos que contiene la siguiente información:

- Número de registro y de accesión de la muestra
- Nombre del agricultor que proporcionó la muestra

- Origen de la semilla, diversidad (color, tamaño, raza o variedad), tiempo de permanencia de la semilla en la familia.
- Porcentaje de germinación y humedad de las muestras a almacenar en el banco.
- Peso inicial y final de las semillas, después de su respectivo secado a 8% de humedad.
- Identificación de las muestras empleadas en el estudio de diversidad molecular.

Establecimiento de un banco local de semillas en UVG-Altiplano

Secuencia operativa para bancos de semillas

El banco se estableció siguiendo la secuencia operativa y procedimientos establecidos a nivel internacional, por Bioversity International (Rao *et al.* 2006), para bancos de semillas y germoplasma. La secuencia operativa incluye los siguientes pasos:

- Documentación y limpieza de las muestras
- Ensayos de germinación
- Ensayos de determinación de humedad (% de humedad relativa, HR)
- Secado de las semillas (hasta 8% de humedad)
- Almacenamiento de las semillas a temperatura ambiente en UVG-Altiplano

Los ensayos de germinación se hicieron bajo condiciones controladas (20/30 °C por 8/16 horas, sin luz) en una cámara de germinación. Los ensayos de determinación de humedad se realizaron con el método de temperatura de horno alta y constante recomendado para maíz y frijol (Rao *et al.* 2007). El secado de las semillas a 8% se realizó con el método de gel de sílica (Rao *et al.* 2007). Las semillas secas se almacenaron en frascos de vidrio en el Banco de Semillas de UVG-Altiplano, bajo condiciones de temperatura ambiente (19-21°C) y 40% de humedad relativa en el cuarto de secado. Las condiciones de almacenamiento en el Banco se monitorearon con un termómetro de pared y empleando un deshumidificador.

Elaboración de un manual técnico para el manejo de las semillas en el Banco

Se elaboró un manual técnico-operativo, adaptado a las condiciones del Banco UVG-Altiplano, para el manejo de las semillas. El manual se elaboró siguiendo las normas internacionales para bancos de semillas y de germoplasma (Rao *et al.* 2007), y su contenido fue validado por los estudiantes de la carrera de Ingeniería Forestal de UVG-Altiplano, durante el Taller de manejo de semillas.

Desarrollo de capacidades y transferencia de tecnología para estudiantes, y equipo técnico del proyecto

El desarrollo de capacidades y transferencia de tecnología para el manejo de semillas en bancos, se hizo a través de un Taller teórico-práctico que se realizó en UVG-Altiplano, dirigido a estudiantes y personal técnico del proyecto.

Alianzas estratégicas con otros proyectos para la capacitación de agricultores

El desarrollo de capacidades en el tema de establecimiento de Bancos Comunitarios de semillas, se hizo a través de tres talleres, cubriendo los siguientes temas.

- **Taller I:** Inmersión y estructura comunitaria y organizacional para establecer Bancos de Semillas
- **Taller II:** buenas prácticas agrícolas y conservación de la agrobiodiversidad en Bancos Comunitarios de Semillas
- **Taller III:** calidad de semilla para conservación en Bancos Comunitarios

Los talleres para agricultores se realizaron a través de una alianza estratégica con otro proyecto que ejecuta la UVG (Bancos de Semillas FAO 44001), financiado por el Tratado Internacional de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura de la FAO.

Estudio de diversidad empleando marcadores moleculares microsatélites (SSR)

Con fines de conservación y para conocer la diversidad de maíz almacenada en el Banco de Semillas, se seleccionaron 48 muestras de maíz, identificadas como de alto rendimiento por los agricultores participantes en el proyecto. De cada muestra se tomaron al azar cuatro semillas que se sembraron en invernadero bajo las siguientes condiciones:

- **Sustrato:** 35% de tierra negra, 35%^a, 30% de arena.
- **Fertilizantes de suelo:** 2-12-17 + 2^b para elementos menores. Aplicación a la tercera semana: 20-20-20 (N, P, K)^c.
- **Tratamiento para plagas de suelo:** 50 cc/10 lt agua^d, 50 cc/10 lt agua^e.

Cuando las plantas alcanzaron las seis semanas, se cortaron muestras de las hojas que se almacenaron a -20°C, hasta su uso. Se extrajo el ADN de las muestras siguiendo el protocolo de Doyle y Doyle (1990) y el protocolo del Laboratorio de Genética Molecular Aplicada del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, CIMMYT (1998).

Para obtener productos de amplificación se empleó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa, PCR, con cinco marcadores moleculares microsatélites (SSR: Umc 1061, Umc 1136, Phi 024, Phi 029, Phi 034). Los marcadores se seleccionaron en base a reportes de literatura sobre locus relacionados a tolerancia a sequía y alto rendimiento. Los productos de amplificación se revelaron empleando geles de poliacrilamida al 6% y tinción de nitrato de plata al 0.2%, siguiendo el protocolo del Laboratorio de Genética Molecular Aplicada del CIMMYT. Para este estudio el CIMMYT donó ADN de dos líneas de maíz: CML 292 y CML 051, para correr en los geles como controles positivos y ayudar en la identificación de los alelos. Como marcador de peso molecular se usó el ϕ X174/Hae III de la marca Sigma, empleado también por CIMMYT para este tipo de estudios.

Las bandas obtenidas en los geles se documentaron por medio de fotos y el análisis de la diversidad molecular de las muestras se hizo con el programa GenAlex 6.5 (Peakal & Smouse 2012), (<http://biology.anu.edu.au/GenALEX/Download.html>).

El revelado de los fragmentos de ADN muestreado sobre geles de poliacrilamida, ha sido ampliamente usado y documentado en la literatura por más de una década; por lo que los resultados que se obtienen con esta técnica, son confiables. Además es la técnica de elección, cuando no se cuenta con un secuenciador automático.

Análisis de la diversidad

Para realizar un análisis completo de diversidad genética se debe emplear un mínimo de 40 individuos por población. Las muestras colectadas para el banco por Municipio fueron entre 2-7, por lo que para emplear el programa de GenAlex 5.6, se evaluaron los resultados de los Municipios con 5 o más muestras. Al tratarse de un estudio preliminar, por el número de muestras, no se pueden emplear parámetros de diversidad genética para evaluar cuánta diversidad se almacenó en el Banco. Sin embargo el conocimiento de los alelos identificados y su distribución son importantes para los programas de mejoramiento, para tomar decisiones sobre la conservación *in situ* y *ex situ* de estos recursos, e implican la generación de información sobre los maíces criollos de Guatemala.

Resultados

Identificar y documentar la diversidad de maíz y frijol en el área de cobertura del proyecto

La información de las muestras de maíz (*Zea mays* L.) y frijol (*Phaseolus vulgaris*, *P. coccineus*). se integró y documentó en una base de datos que incluye: 209 accesiones de maíz y 23 de frijol. La base de datos incluye información sobre: el número de accesión, nombre del agricultor que la cultiva, Municipio donde se cultiva, diversidad fenotípica de las semillas, resultados de los ensayos de germinación y de humedad.

Establecimiento de un banco local de semillas en UVG-Altiplano

Un total de 209 muestras de maíz y 23 de frijol fueron almacenadas en el banco de UVG-Altiplano bajo condiciones de temperatura ambiente (19-21°C) y 40% de humedad relativa. Estudiantes de la UVG-Central participaron en las actividades y ensayos de la secuencia operativa, así como en el almacenamiento de las semillas en el Banco (Gráficas 1, 2 y 3).

^aPeat moss, ^bBankur, ^cAminoleaf, ^dBanrot-Scotts, ^eVirkons-Bayer



Gráfica 1. Equipa básico e instalaciones del Banco de Semillas de UVG-Altiplano



Gráfica 2. Estudiantes de la UVG-Central, participaron en la secuencia operativa del Banco



Gráfica 3. Estudiantes de la UVG-Central, almacenando muestras en el Banco

Desarrollo de capacidades y transferencia de tecnología para estudiantes, equipo técnico del proyecto y agricultores

48 estudiantes de UVG-Altiplano, dos técnicos y dos estudiantes del Campus Central, participaron en el Taller teórico práctico de capacitación en el manejo de semillas en Bancos. Una media de 15-20 agricultores asistieron por taller a los tres talleres de capacitación impartidos para establecer Bancos Comunitarios de Semillas en dos comunidades de Sololá. (Las Canoas Bajas en San Andrés Semetabaj y Ojo de Agua, San Antonio Palopó) (Gráficas 4, 5, 6 y 7).



Gráfica 4. Capacitación teórica a estudiantes sobre manejo de semillas en Bancos



Gráfica 5. Práctica de laboratorio sobre ensayos y secuencia operativa para el manejo de semillas en Bancos



Gráfica 7. Capacitación sobre calidad de semilla para almacenamiento en Bancos Comunitarios en San Andrés Semetabaj.



Gráfica 6. Capacitación a agricultores de San Antonio Palopó y San Andrés Semetabaj sobre el manejo de Semillas en Bancos Comunitarios

Estudio molecular empleando marcadores moleculares microsatélites (SSR)

En el Cuadro 1 se presentan las muestras empleadas para el estudio molecular y que se encuentran almacenadas en el Banco de Semillas de UVG-Altiplano.

Análisis de bandas

Para identificar los alelos (tamaño del fragmento, bp) presentes en las muestras de maíz almacenadas en el Banco de semillas, se emplearon todas las muestras de las que se obtuvieron bandas visibles y evaluables. Sin embargo para conocer la frecuencia de los alelos y su distribución entre los Municipios, se emplearon, para que corriera el programa GenAlex, sólo aquellos Municipios que tenían cinco o más muestras.

El Cuadro 2 muestra los marcadores empleados en el estudio, su localización en el genoma y los alelos identificados en cada uno de estos locus para los 16 Municipios de Sololá.

Las bandas obtenidas en cada gel corresponden a cada uno de los individuos de cada muestra. Se analizaron midiendo la distancia de migración de cada banda, de acuerdo al procedimiento descrito por CIMMYT en el Manual de aplicaciones de los marcadores moleculares al mejoramiento de plantas (1996). Se empleó también la información de *Maize Standard Alleles* de Ambionet (www.cgiar.org/ambionet). Cada banda representa un alelo con un tamaño (bp) comparable al de las bandas del marcador de peso molecular ($X174/Hae III$) y al de las bandas del ADN control de CIMMYT (CML 292), lo que hace posible medir su distancia de migración para poderlo nombrar. La banda se nombra en base al tamaño (bp) del marcador y del ADN control. Este tipo de análisis permite también diferenciar a los individuos homocigotas, que aparecen en el gel con sólo una banda, de los heterocigotas que aparecen con dos. Se excluyeron del análisis bandas con mala resolución y bandas cuya distancia de migración fuera difícil de determinar.

Los locus más polimórficos fueron el Umc 1061 y el Umc 1136, con seis alelos cada uno. Mientras que el Phi 029 fue el menos polimórfico con sólo dos alelos. Para el locus Umc1061 los alelos con mayor distribución en los 16 municipios analizados fueron el 104 y el 101. Para el locus Umc 1136 no se mostró una diferencia marcada de distribución entre los seis alelos identificados. El alelo 170 del locus Phi 024 se encontró distribuido en 13 de los 16 Municipios, siendo este alelo el más ampliamente distribuido de todos los identificados. El valor de P (número de loci polimórficos = 100%), indicando, con el número de muestras evaluado, una alta diversidad de alelos y de riqueza alélica, que se corresponde con la diversidad fenotípica (color y forma de grano, tamaño y forma de las mazorcas), observada en las muestras. Este dato sin embargo deberá confirmarse con un número mayor de muestras, como se indicó anteriormente y con la aplicación de los parámetros de diversidad genética.

La identificación de alelos es importante, para caracterizar las colecciones de Bancos de Semillas, y para conocer su ubicación en los cromosomas. Estudios más avanzados, de mapeo genético, han permitido identificar QTL (locus con rasgos cuantitativos continuos) en regiones específicas de los cromosomas, y relacionar a alelos específicos con estas regiones. Dentro de estos estudios se citan los del análisis de la diversidad genética de la tolerancia a sequía de maíz, empleando marcadores moleculares de Sari-Gorla (1999), y los de Ribout *et al.* (1996 y 1997). En estos estudios se identificaron a los cromosomas 1, 2, 4, 5, 7, 8 y 9 como directamente relacionados a la expresión

Cuadro 1. Muestras empleadas en el estudio molecular

No. de entrada	Nombre Común/Fenotipo	Agricultor	Municipio
8	blanco/poco grano negro, semilla muy grande, material interesante	Ricarda Valeria Estacuy	Las Esperanzas, Sta. Lucía Utatlán
9	amarillo/grano largo diferente	Ricarda Valeria Estacuy	Las Esperanzas, Sta. Lucía Utatlán
32	mazorca con grano blanco y amarillo	Cruz Coj Guarchaj	Cantón Patzite, Nahualá
37	amarillo pálido	Catarina Guarchac	Cantón Patzité, Nahualá
38	amarillo	Melchor Julio Tzoc	Nahualá
43	blanco con grano de color, amarillo	María Ofelia Quex García	Barrio Tsantzir Alto, Sn. Andrés
44	blanco, SALPOR	María Ofelia Quex García	Barrio Tsantzir Alto, Sn. Andrés
55	mezcla, blanco amarillo, rosado	Luis Encarnación	Sta. María Tecún
56	amarillo rojo	Ceferino Martín Pacheco	Sta. María Tecún
57	mezcla amarillo rojo	Manuel Margarito Talé Menchú y Sabino Santiago Talé García,	Sta. María Tecún
58	mezcla amarillo, rojo rosado	Apolonio Antonio Menchú	Sta. María Tecún
60	amarillo /grano muy grande	María Micaela Yac	Churrumul, Sta. Lucía Utatlán
61	amarillo	Julián Chávez	Churrumul, Sta. Lucía Utatlán
63	amarillo	Francisca Juana Tzul Maz	Churrumul, Sta. Lucía Utatlán
67	negro	Inocente Jacinto ajuac	Xejusú. Sn. Antonio Tolimán
68	mezcla amarillo pálido y oscuro	Inocente Jacinto ajuac	Xejusú. Sn. Antonio Tolimán
73	amarillo	Alvaro Emilio Archila	Pacamán 1, Sn Lucas Tolimán
77	mezcla blanco, amarillo negro	Josefina Ajsibinac	Pacamán 1, Sn Lucas Tolimán
79	blanco con pocos granos oscuros	Pedro González	San Pedro
83	amarillo	Magdalena González Salquil	San Pedro
84	blanco	Juan Penchú González	San Pedro
86	rojo	Nicolasa Ermelinda	San Pedro
92	negro	Pablo Velásquez Ixcol	Aldea Paquip, Sta. Clara
94	blanco	Miguel To Tzaj	Paquip, Sta. Clara la Laguna
100	amarillo	Pedro Emanuel Mazariegos	Sta. Clara, La Laguna
101	amarillo	Luis Mazariegos Velásquez	Sta. Clara, La Laguna
106	negro	Dolores Pacay	Cerro de Oro, Santiago Atitlán
110	blanco	Dolores Chay	Santiago Atitlán
116	amarillo	José Sicay	Cerro de Oro, Santiago Atitlán
119	amarillo	Tomás Ajuac	Cerro de Oro, Santiago Atitlán
126	mezcla blanco, negro, amarillo	Enrique Santiago Ujpan Velásquez	Palestina, Sn. Juan la Laguna
137	amarillo	Concepción Ixcaya guajan	Cristalinas, Sn. Pablo la Laguna
142	amarillo	Ana Isabel tuy Ben	Sector Sn. Francisco, Concepción
159	amarillo	Francisco Catincuc	Caserío Chuoxajil, Sta. María Ixtahuacán.
160	amarillo	Manuel de Jesús Xocholij	Caserío Chuoxajil, Sta. María Ixtahuacán.
176	blanco	Irma Cojón González	Santa Catarina Ixtahuacan
177	blanco	Juan Catinac T	Santa Catarina Ixtahuacan
186	blanco	Juan Catinac Tambriz	Santa Catarina Ixtahuacan
187	blanco	Lorenzo Peruchu Peruchu	Santa Catarina Ixtahuacan
188	blanco	Hilda Lucrecia Ramirez Baquin	Sololá
189	amarillo	Lucía Juracán	Concepción
190	blanco	Esteban Chumil Meneta	Sololá
178	amarillo/poca semilla	Pascuala Xocom	Santa Catarina Ixtahuacan
179	negro	Pascuala Xocom	Santa Catarina Ixtahuacan
180	blanco	Pascuala Xocom	Santa Catarina Ixtahuacan
181	blanco	Francisca Tzepziquin	Santa Catarina Ixtahuacan
182	amarillo	Francisco Guarchac Guarchac	Santa Catarina Ixtahuacan

Cuadro 2. Alelos identificados en los cinco locus analizados en las muestras de maíz de los 16 Municipios de Sololá

Microsatélites/locus	Localización en el genoma	Tamaño de fragmento (bp)/alelos identificados
Umc 1061 ^a	Región 6 cromosoma 10	98, 101, 104, 107, 108, 110
Umc 1136 ^b	Cromosoma 3	170, 167, 162, 160, 155, 145, 135
Phi 024 ^b	Region 1 cromosoma 5	172, 170, 168
Phi 029 ^b	Region 4 cromosoma 3	152, 150, 149, 148
Phi 034 ^b	Región 2 cromosoma 7	146, 145, 130, 118

^a Locus asociados con la expresión del intervalo ASI (período de floración masculina y femenina), intervalo directamente relacionado con tolerancia de sequía.

^b Locus asociado a características de alto rendimiento

Cuadro 3. Distribución de los alelos en los 16 municipios

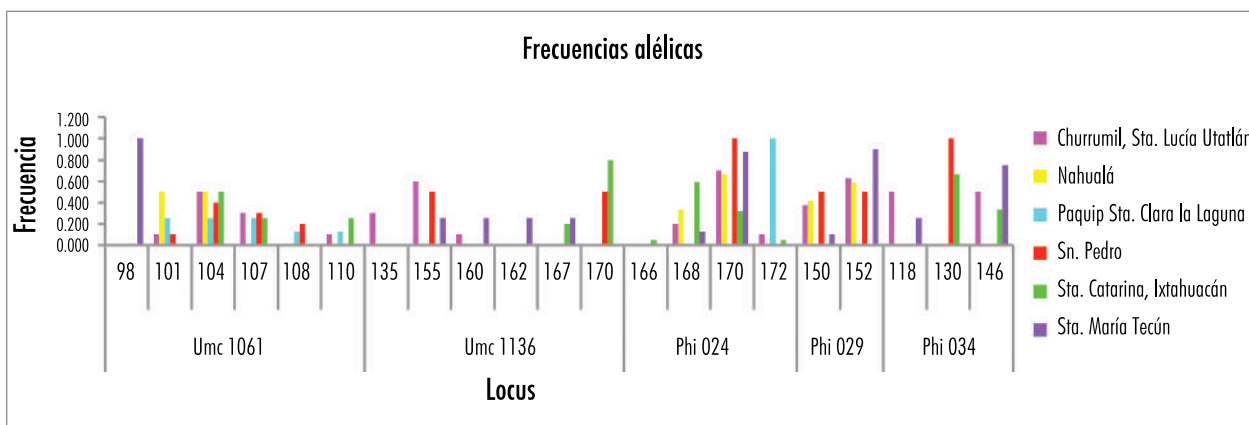
PRIMER	ALELOS	No. de Municipios en los que se encontró el alelo
Umc 1061	110	3
	108	2
	107	6
	104	10
	101	11*
Umc 1136	98	5
	170	3
	167	2
	162	2
	160	3
	155	3
	135	2
Phi 024	172	4
	170	13*
	168	5
Phi 029	152	8
	150	11*
Phi 034	146	7
	143	1
	136	1
	130	2
	118	3

*Alelos mayormente distribuidos en los 16 municipios

del intervalo ASI (intervalo entre la floración masculina y femenina) en maíz y directamente relacionado a la tolerancia a sequía. En nuestro caso se obtuvo información de los alelos presentes en los cromosomas 4, 5 y 7; también relacionados con la expresión del intervalo ASI.

A diferencia del Cuadro 3, donde aparece la distribución de todos los alelos en los 16 Municipios, la Gráfica 8 se presenta como referencia de cómo se calcularon las frecuencias alélicas, en aquellos Municipios donde se colectaron de cinco muestras en adelante.

La Gráfica 4 muestra la distribución de los alelos en los Municipios específicos y es congruente con la información presentada y comentada para el Cuadro 3, donde se observa al alelo 170 del locus Phi 024, como el de más amplia distribución en los seis Municipios evaluados con el programa GenAlex 6.5. La Gráfica 9 permite observar la distribución geográfica de los cinco municipios evaluados, que por su proximidad y posible flujo de genes e intercambio de semillas entre agricultores, podrían explicar la amplia distribución observada para el alelo 170.



Gráfica 8. Frecuencias alélicas obtenidas por Municipio



Gráfica 9. Municipios del Departamento de Sololá.

Los resultados que se presentan en la Gráfica 10 son preliminares e indicativos de la tendencia de la heterocigosidad que se obtuvo con los resultados analizados para 5 Municipios. Estos resultados no son definitivos, debido a que se necesitan 40 individuos por muestra para calcular los parámetros de diversidad genética y la diversidad genética total. Sin embargo la figura nos permite observar el número de heterocigotas esperados para las muestras y Municipios analizados.

La comunidad de Churrumil en Santa Lucía Utatlán presentó los números más altos de individuos heterocigotas, así como de alelos efectivos, indicando con los valores obtenidos, una posible alta diversidad genética.

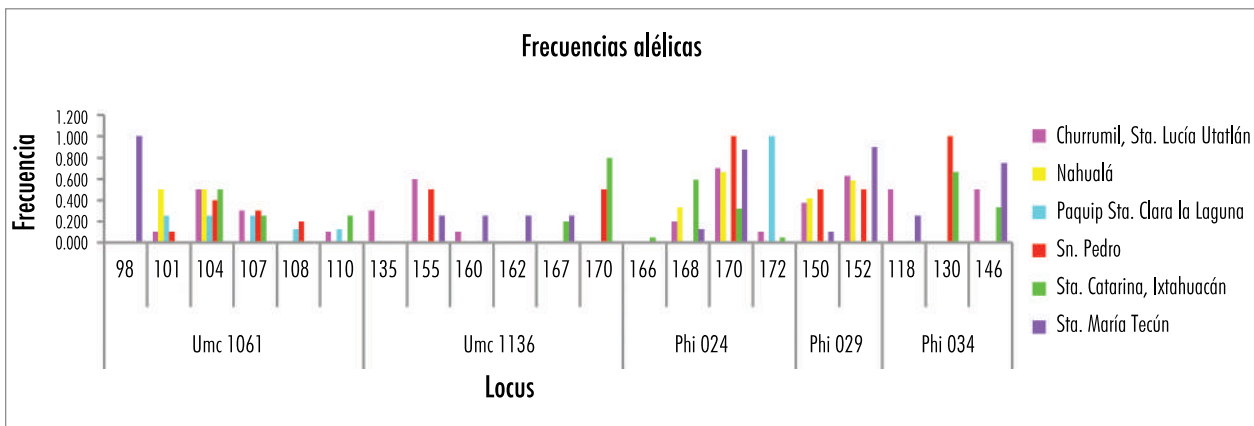
Discusión

Análisis de la diversidad molecular

Los resultados obtenidos, siendo aún preliminares, permiten analizar tendencias en el patrón de las frecuencias alélicas y la distribución de los alelos en los 16 Municipios. Estos resultados de diversidad molecular preliminar, con un 100% de porcentaje de locus polimórficos y de riqueza alélica (4.6 alelos por locus), indican una tendencia a una alta diversidad genética, que tendrá que corroborarse con un mayor número de muestras para poder aplicar los parámetros de diversidad genética. La diversidad fenotípica observada, a nivel de forma y color de granos y de mazorcas, de las muestras analizadas molecularmente, apuntan también a una posible alta diversidad. Esta diversidad es mantenida y favorecida a nivel de campo por la selección que los agricultores hacen al sembrar sus semillas con diferentes características y adaptadas a esas áreas, en diferentes campos, en un mismo gradiente altitudinal (van Eaten 2006).

Los alelos identificados en cuatro de los locus (Umc 1061, Phi 024, Phi 029 y Phi 034) fueron similares a los identificados en un estudio que analizó los mismos locus (Maselli *et al.* 2006), con muestras provenientes de regiones secas de siete departamentos de Guatemala (El Progreso, Jalapa, Zacapa, Chiquimula, Huehuetenango, y Baja Verapaz). Las diferencias entre ambos estudios incluyen alelos (Umc 1061: 173, 137 y 134) presentes en las regiones secas y ausentes en Sololá y un alelo (Umc 1061: 108) presente solamente en Sololá.

Los resultados moleculares e información que se generó con este estudio permiten ampliar el conocimiento de la estructura genética del maíz criollo de Guatemala y de la distribución y frecuencia de los alelos que la conforman. Esta información es importante para apoyar y emplearse en un Plan Nacional de conservación de Recursos Fitogenéticos y puede también utilizarse por los mejoradores de maíz del país.



Gráfica 8. Frecuencias alélicas obtenidas por Municipio

Establecimiento de un banco de semillas en UVG-Altiplano

Las actividades realizadas dentro de este componente permitieron establecer un Banco de Semillas con fines de docencia y conservación, aplicando la secuencia operativa y las normas internacionales para el manejo de semillas en Bancos de Germoplasma. El fortalecimiento de capacidades en este tema, dirigido a estudiantes y personal técnico de la UVG central y Campus Altiplano, permitirá que los estudiantes adquieran experiencia en el manejo de las semillas, al encargarse ellos mismos de la secuencia operativa del Banco, cumpliendo así con los fines docentes del Banco. El manual que se generó con el proyecto permitirá facilitar el manejo del Banco a las siguientes generaciones de estudiantes.

Con el establecimiento del Banco de Semillas, la UVG está promoviendo el conocimiento en este importante y prioritario tema, y contribuyendo a la conservación de los recursos fitogenéticos y el patrimonio genético del país.

Agradecimientos

Al Dr. Rolando Cifuentes por gestionar y facilitar la ejecución del proyecto y sus actividades. A Aracely Bolvito, Secretaria del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios, por apoyar en todo lo relacionado a la ejecución del proyecto. Al personal técnico del proyecto UVG-USDA: Ing. Edwin de León, Inga. Sofía Gómez, Ing. Josué Ajcálón, Ing. Daniel de León, e Ing. Luis Arévalo, por facilitar y colaborar para realizar las capacitaciones a los estudiantes y agricultores. A las estudiantes Andrea Navas y María José Larrave por participar en las actividades y ensayos de la secuencia operativa para establecer el Banco de Semillas y en la extracción de ADN de las muestras de maíz para el estudio molecular. A la Inga. Fátima Melgar por apoyar las actividades y ensayos de la secuencia operativa para establecer el Banco, y las actividades del estudio molecular. A la Licda. Margarita Palmieri y Licda. Elena Dardón por facilitar el equipo y materiales para el estudio molecular.

Bibliografía

- Doyle JJ, Doyle JL (1990) *Isolation of plant DNA from fresh tissue* Focus 12: 13-15
- CIMMYT (1996) *Molecular marker applications to plant breeding* Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, CIMMYT, México DF
- CIMMYT (1998) *Laboratory protocols Applied Molecular Genetics* Laboratory, Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, CIMMYT, México DF
- CIMMYT (1999) *Taller de acercamientos moleculares para el mejoramiento genético de cereales para la producción estable en ambientes secos* realizado en el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, CIMMYT, México DF. Disponible en: www.cimmyt.org/ABC/map/research_tools_results/wsm.../WSdroughtFinalRepAtt1.ht
- FAO (2008) *Segundo informe nacional sobre el estado de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura de Guatemala* Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Guatemala

- FAO (2010). *El segundo Informe sobre el estado de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura en el mundo* Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/014/i1500s/i1550s.pdf>.
- FAO (2011) *Second global Plan of Action for the Conservation and Sustainable Utilization of Plant Genetic Resources for Food and Agriculture* Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma. Disponible en <http://www.fao.org/do-crep/015/i2624e00.htm>.
- Maselli S, Fuentes M, Zea JL (2006) Colección, evaluación, caracterización agronómica y molecular con microsatélites (SSR) de germoplasma de maíz (*Zea mays* L.) con tolerancia a sequía Informe de Proyecto No. 010-02, línea AGROCYT del CONCYT, Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas, ICTA. Bárcena, Villa Nueva, Guatemala
- Rao NK, Hanson J, Dulloo ME, Ghosh K, Novell D, Larinde M (2007) *Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma* Manuales para Bancos de Germoplasma No. 8 Bioersity International, Roma
- Ribaut JM, Jiang C, González-de-León D, Edmeades GO, Hoisington DA (1997) Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. 2. Yield components and marker-assisted selection strategies Theor Appl Genet 94:887-896
- Ribaut JM, Hoisington DA, Deutsch JA, Jiang C, González-de-León D. (1996) Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. 1. Flowering parameters and the anthesis-silking interval Theor Appl Genet 92:905-914
- Richards C (2004) Molecular technologies for managing and using genebank collections In: The evolving role of genebanks in the fast-developing field of molecular genetics MC de Vicente (Ed) pp. 19-25, International Plant Genetic Resources Institute, Rome
- Sari-Gorla M, Krajewski P, Di Fonzo N, Villa M, Frova C (1999) Genetic analysis of drought tolerance in maize by molecular markers. II. Plant height and flowering Theor Appl Genet 99:289-295
- Peakall R, Smouse PE (2012) GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update Bioinformatics 28: 2537-2539
- Van Eaten J (2006) Changes in farmers' knowledge of maize diversity in highland Guatemala, 1927/37-2004 Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine 2:12 doi:10.1186/1746-4269-2-12 <http://www.ethnobiomed.com/content/2/1/12>