

## 1. Informe técnico final de subproyectos

### • NOMBRE DEL PROYECTO

**Línea de base molecular de la estructura poblacional de razas locales de maíz y posible flujo génico en zonas de coexistencia con cultivares híbridos de maíz amarillo duro**

### • NOMBRE DEL INVESTIGADOR PRINCIPAL

César Fernando López Bonilla, Profesor Principal, Departamento de Biología. Responsable del Área de Biología Molecular, IBT -UNALM  
e.mail: [cflb@lamolina.edu.pe](mailto:cflb@lamolina.edu.pe) , [cflb2000@yahoo.com](mailto:cflb2000@yahoo.com)

### • NOMBRE DE LA INSTITUCIÓN QUE DESARROLLA EL PROYECTO

Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Agraria La Molina (IBT – UNALM)  
**Dirección:** Av. La Universidad s/n. Apartado 12-056, La Molina, Lima 12, Perú  
**Telf. Contacto:** 51-1-6147800 ext. 271 **FAX:** 51-1-3482330  
**e-mail:** [fernorth@terra.com.pe](mailto:fernorth@terra.com.pe)  
**Web page:** <http://www.lamolina.edu.pe/institutos/ibt/>

### • JUSTIFICACIÓN

El Perú, es uno de los principales Centros de Diversidad de Maíz, habiéndose reportado 55 tipos raciales. Sin embargo, esta caracterización racial data de los años 1960, con los estudios de Grobman (1961). A la fecha, no se conoce aspectos del estado de la diversidad alélica racial y las estructuras genéticas de las poblaciones, por lo que se requiere generar esta información asistiéndose de técnicas de la biología molecular.

Por otro lado, el maíz amarillo duro (MAD) fue introducido hace más de 50 años en la zona de costa, donde ha coexistido con los maíces amiláceos locales; sin embargo, no se ha documentado la ocurrencia de flujo génico entre ellos. Otro aspecto a considerar es el crecimiento económico del país en los últimos años, que han impulsado una mayor demanda por el consumo de carne de ave, cerdo, vacuno y otros; asimismo, se ha incrementado el consumo de otros alimentos que utilizan como insumo maíz amarillo duro (MAD). Sin embargo, la producción de MAD no ha crecido en la misma proporción, obligándonos a importar aproximadamente un 60% de nuestra necesidad. Por lo mencionado, los agricultores requieren incrementar sus rendimientos, productividad y resistencia a factores bióticos como enfermedades, plagas, pestes; y a factores abióticos como sequía; sin embargo, hay una marcada heterogeneidad en el uso de la semilla híbrida, que repercute fuertemente en la rentabilidad del cultivo. Ante esta situación, es una necesidad desarrollar información sobre el estado del uso de la semilla; saber cómo se han comportado los maíces raciales locales en zonas de coexistencia con MAD y conocer cuál es la necesidad de impulsar el uso de la semilla híbrida certificada.

Ante el posible ingreso de maíces GM, se requiere preparar protocolos para evaluar la presencia de sembríos ilegales, o establecer los criterios de cruzabilidad en algunas zonas de coexistencia con maíces raciales locales de los tipos raciales.

Por lo mencionado, el Proyecto genera información del estado de la diversidad racial en zonas de coexistencia comparando con los tipos raciales del Banco de Germoplasma de la UNALM y algunos híbridos comerciales; además, documenta sobre el manejo de la semilla en relación al flujo génico; sobre las principales enfermedades, pestes y plagas que actualmente existen y que sirven para trazar la línea de base del estado del cultivo de MAD coexistiendo con maíces amiláceos raciales locales, en caso de que se empiecen a generar autorizaciones para el uso de maíz GM.

## • DESCRIPCION DEL SUBPROYECTO

Se tiene planteado estudiar la variabilidad alélica en maíces de la razas nativas extendidas por la costa norte y costa central, donde coexiste desde hace más de 50 años con maíces amarillos duros e híbridos. De modo que se desea contar con la línea base del estado de la variación genética racial y documentar el estado del uso y manejo de la semilla como posible promotor de flujo génico; el estado fitosanitario; optimización de protocolos para detección de eventos transgénicos en los valles de la costa norte y central del Perú; y ensayos controlados de cruzabilidad y dispersión de polen entre maíces blancos y amarillo duros.

## • OBJETIVOS

- I. Determinar a nivel molecular el estado y distribución de la variabilidad genética y alélica en los grupos raciales de maíz existentes en zonas de costa norte y central del Perú.
- II. Evaluar y estimar de manera comparativa los parámetros génico-poblacionales en las poblaciones locales de maíz en 2 regiones agroecológicas y en la colección de germoplasma de la Universidad Nacional Agraria La Molina.
- III. Documentar y evaluar los sistemas de producción, comercialización, movimiento de las semillas y períodos de cultivo de MAD y de poblaciones raciales en costa norte y central.

- IV. Realizar una prospección del estado e historial fitosanitario como línea de base para evaluar los riesgos en la diversidad racial del maíz por la posible introducción de maíz mejorado convencionalmente
- V. Comprobar la presencia de eventos de maíz GM en zonas de producción de MAD.
- VI. Sentar las bases y criterios de riesgos de flujo génico en campos de cultivo de MAD hacia los tipos raciales locales.

## • MÉTODOS

- Muestreo, con apoyo de las Juntas de Riego Distritales y pobladores locales, se eligieron zonas donde se cultiva maíz amarillo duro junto a maíces raciales locales en Lambayeque y La Libertad; donde se colectaron granos de maíz de los tipos raciales: Chancayano, Alazán y Mochero. Además, del Banco de Germoplasma de la UNALM, recibimos muestras de tamaño 50, representativas de 6 tipos raciales: Chancayano, Chaparriño, Alazán, Mochero, Canteño, Cusco Gigante, de las cuales germinaron entre 21 a 24 plántulas. Se utilizaron muestras de granos de 8 híbridos comerciales: INIA-605, INIA-608, INIA-611, INIA-609, INIA-617, Pioneer 30K73, Pioneer 3862, Pioneer 30F35. De los híbridos se han tomado para el estudio 12 individuos de cada tipo.
- Se realizó la germinación individual de los granos de maíz amiláceo y amarillo, obteniéndose hojas tiernas como fuente de tejido para la extracción del ADN, mediante el método Doyle & Doyle (1990), con 2% de CTAB. La cuantificación y calidad del ADN se evaluó en un espectrofotómetro UV y mediante electroforesis de agarosa al 0.8%.
- Para el estudio de la diversidad alélica y estructura poblacional se han evaluado 22 pares de cebadores SSR amplificados con el programa reportado por Morales (2002) y 19 pares de SSR estudiados por Warburton (2002), del primer grupo se eligieron 3 y del segundo 7 por su comportamiento polimórficos. También, se han ensayado 6 combinaciones de cebadores AFLP, eligiéndose las 2 más informativas, con patrones muy bien definidos (Eco 33 5'GAC TGC GTA CCA ATT C|AAG3' - Msi 41 5'GAT GAG TCC TGA GTA A|AGG-3 y Eco 33- Msi 61 5'GAT GAG TCC TGA GTA A|CTG3'.
- Los fragmentos se analizaron en geles denaturantes de poliacrilamida al 6% con úrea 7M. La detección se realizó con un protocolo de tinción de plata y revelado con hidróxido de sodio.
- Se elaboró una encuesta consensuada con las áreas temáticas GIS y Socio economía, para documentar el uso y manejo de la semilla híbrida, maíces amiláceos locales en zonas de coexistencia.
- Para desarrollar el estado fitosanitario del cultivo, se visitaron a 40 agricultores de zonas como costa central (Cañete, Pisco, Barranca, Irrigación Santa Rosa y Huaral), costa norte (Lambayeque y La Libertad). La detección de las enfermedades fungosas se llevó colectando a la planta enferma y observando estructuras microscópicas; además del desarrollo en cámaras húmedas y en medio de cultivo PDA, AN y PARB.
- Para la evaluación de presencia de eventos de maíz GM, se han colectado 15 a 20 hojas de plantas diferentes de cada campo, haciendo un total de 66 campos en Lambayeque. Se formaron 3 bulks, juntando 5 hojas diferentes y extrayendo el ADN por el método del CTAB 2% de cada bulk. Luego, se juntaron los 3 bulks formando una solución stock de ADN por cada campo. Las muestras de grano

se procesaron, bajo el criterio de 20 granos por mazorca, de un total de 100 mazorcas por campo. El total de campos fue de 10. Se tomaron 700 granos que se molieron y de ahí se tomó 200mg de harina extrayéndose el ADN con Kit. Esta actividad la desarrolló el Laboratorio de Biología Molecular del INIA.

- Para establecer los criterios de cruzabilidad, se han implementado parcelas experimentales: la primera en el campus de la UNALM, según el diseño de la figura N° 1, donde se colocó maíces amiláceos Chancayano, Pardo y MAD, la siembra se llevó a fines de octubre 2011; la segunda parcela en la UNALM según el diseño de la figura N° 2 en la coordenada S 12.08225°, WO 76.95461°, altitud 219 msnm. donde se ha cultivado maíz tipo mochero y alazán, con MAD entre los meses de marzo a Julio 2012. La tercera parcela está ubicada en el Distrito de Ilimo en Lambayeque, en las coordenadas S 06.46959°, WO 79.88326° a una altitud de 48 m.s.n.m. (figura N° 3), donde se ha colocado maíz Chancayano, Pardo y Mochero como maíces amiláceos en coexistencia con MAD, la siembra se dio en el mes de febrero 2012. En los tres casos, la dirección del viento va desde el MAD hacia los maíces amiláceos.

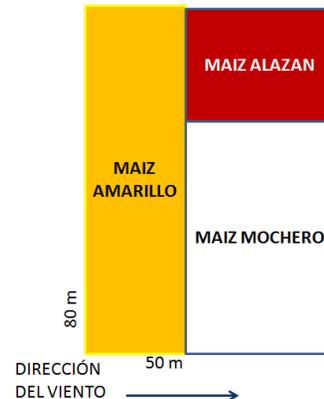
**Figura N° 1**

**ENSAYO DE CRUZABILIDAD ENTRE MAIZ AMARILLO DURO Y MAICES AMILACEOS EN CONDICIONES DE LA MOLINA**



**Figura N° 2**

**ENSAYO DE CRUZABILIDAD EN LA UNIVERSIDAD AGRARIA LA MOLINA**



**Figura N° 3**

**ENSAYO DE CRUZABILIDAD EN PARCELA DE LAMBAYEQUE**



## • RESULTADOS Y DISCUSIÓN

- En el presente estudio, hemos encontrado en la provincia de Lambayeque, algunos distritos como: Ilimo, Pacora, Túcume, Mochumí, Jayanca, parcelas de maíces de los tipos raciales Mochero y Alazán coexistiendo con MAD. En la provincia de Chiclayo, en el distrito de

Reque se acostumbra a cultivar un maíz blanco para consumo principalmente en choclo o en tamales, al que denominan “maíz Huachano”; en esta zona, rara vez siembran MAD, por lo tanto, no llegan a coexistir juntos en los mismos períodos fenológicos; mientras que en el distrito de Chongoyape, sólo acostumbran a sembrar MAD. En la ruta a la provincia de Ferreñafe (donde sólo siembran MAD), está la Estación Experimental Vista Florida de INIA, donde cultivan maíz blanco “Chancayano”, del que aprovechan como forraje y como choclo (cocido en fresco); aquí también siembran MAD, pero evitan que se crucen sembrándolos en parcelas muy distanciadas (más de 200 m) o en diferentes épocas del año.

- La línea de base de la caracterización alélica y genética racial, que nos permite entender ¿qué ha pasado durante tantos años de coexistencia con MAD?; y documentar el estado de las estructuras poblacionales de los tipos raciales, evaluando el estado de vulnerabilidad genética en caso del ingreso de nuevos híbridos comerciales de MAD, se trazó con 10 pares de cebadores microsatélites que nos permitieron observar un alto polimorfismo alélico en los maíces raciales locales provenientes de las zonas de cultivo y las equivalentes del Banco de Germoplasma. La Tabla 1 presenta el número de alelos diferentes encontrados en los 10 loci microsatélites para los maíces raciales locales; así, la raza Mochero fue la que presentó mayores variantes alélicas por locus (de 1 a 10), seguido de la raza Alazán (de 2 a 8). La raza Chancayano registró de 1 a 6 alelos diferentes en algunos loci, con un menor número promedio de alelos en comparación con los otros maíces raciales locales. En todos los casos no hubo 100% de concordancia alélica entre las muestras del banco y las colectadas en las zonas de cultivo; además, las frecuencias génicas para los 10 loci microsatélites estudiados presentaron valores entre más de 2% hasta cerca de 80 %; y, el polimorfismo en todos los loci estuvieron entre 90 a 100%. Estas variaciones en sus contenidos alélicos, podrían estar relacionados a las maneras como los agricultores mueven la semilla. Cuando cosechan, una parte la comercializan como choclo en los mercados locales; otra parte, dejan secar y desgrana, comercializándolo en el Mercado Mayorista de Mochoqueque. Luego, los agricultores nuevamente compran granos de maíz Mochero o Alazán cuando lo requieren para las siembras. De este modo, mantienen un movimiento y mezcla de las semillas; aunque, existen algunos agricultores que guardan semilla y luego la expenden a sus compañeros durante las épocas de siembras. En ese movimiento de la semilla, es posible que ocurran mezclas de granos, ya que hemos encontrado en Túcume, mazorcas de maíz choclo de la raza Mochero mezclado con mazorcas de un maíz blanco que fenotípicamente más corresponde al maíz pardo (un tipo de maíz introducido y que se utiliza para choclo). Mediante este estudio hemos logrado obtener la caracterización alélica para los maíces raciales locales del Banco de Germoplasma y las que cultivan en los campos de Lambayeque, que servirá de referente para futuras evaluaciones. Además, los valores de alto polimorfismo observado en los tipos raciales, nos permiten sustentar que los tipos raciales no han sufrido pérdida de diversidad o erosión génica en más de 50 años de coexistencia con los maíces amarillos convencionales, como consecuencia de la deriva génica o el flujo génico.

- La diversidad genética de Nei estimada en los maíces raciales locales estuvo entre 44.79% a 66.79%; mientras que los híbridos resultaron menos diversos, explicado por su origen del cruce de líneas puras. Este hecho nos indica que existe un buen nivel de heterocigosis, lo que estaría permitiendo mantener las variantes alélicas en las poblaciones. La diferenciación genética entre los maíces raciales locales del Banco y sus equivalentes de campo fue estimada por medio del  $F_{st}$ ; así, los maíces Alazán presentaron valores de diferenciación muy bajos entre 1.98% a 11.82 %, que indican alto parecido entre ellos; para los maíces Mochero la diferenciación fue 7.35% a 11.86%, indicándonos baja diferenciación; y para el maíz Chancayano la diferenciación genética fue mayor (18.7%), indicándonos que las muestras del banco y la obtenida en Lambayeque son ligeramente más diferentes entre sí.

- Las distancias genéticas de Nei estimadas, que nos permiten determinar qué poblaciones son más cercanas en su composición genética

y cuales están más alejadas, fueron mayores entre los maíces amarillos duros y los maíces amiláceos raciales, con valores entre 0.5828 y 1.7810; mientras que las distancias genéticas entre maíces amiláceos raciales fueron menores, variando entre 0.0581 a 0.5351, este último valor se presentó entre Chancayano INIA y Mochero de Mochumí 2; es decir esos dos tipos de maíces resultaron ser los más alejados genéticamente, aunque el valor es relativamente bajo. El dendograma de la figura N° 4 muestra claramente que los maíces amiláceos raciales se mantienen muy diferenciados genéticamente de los maíces amarillos duros, por lo que podríamos inferir que no han ocurrido sucesos de flujo génico o mezclas entre ambos tipos de maíces; debemos indicar sobre esta afirmación que los híbridos de MAD han sido reemplazados permanentemente por nuevas variedades comerciales a lo largo de todo el tiempo que ha transcurrido desde su introducción en nuestro país; además, los agricultores evitan el flujo génico no utilizando granos amarillos que pudieran aparecer en sus mazorcas de maíces blancos raciales.

- Los análisis mediante AFLPs, generaron 121 loci en 7 poblaciones de maíces de los tipos raciales (Alazan del Banco, Alazan de Túcume, Chancayano del Banco, Chancayano INIA, Mochero del Banco, Mochero de Túcume y Chaparreo del Banco); y, de los 8 híbridos de MAD empleados en este estudio. La diversidad genética varió entre 13% a 24% aproximadamente en los tipos raciales y entre 3 y 18% en los amarillos duros. La figura N°5 nos presenta el dendograma generado mediante distancias genéticas de Nei para marcadores AFLPs entre los maíces raciales y los híbridos amarillos; Podemos observar una clara diferenciación genética entre los maíces amiláceos y los amarillos, de esta manera podemos confirmar los resultados obtenidos también por la técnica de microsátélites.

- Una pérdida de los tipos raciales puede estar condicionado a la voluntad del agricultor por el ingreso de un nuevo cultivo por el que le paguen mayor precio o en caso de tratarse de una nueva variedad de MAD (GM o no GM) influirán mucho los costos de la semilla, si son más bajos o si se trata de una variedad más productiva. A pesar de estas observaciones, siempre hay agricultores que sembrarán los maíces raciales locales, aunque destinen áreas cada vez más pequeñas, lo que podría causar deriva génica en aquellos alelos de baja frecuencia, tal como podría estar sucediendo en los maíces Chancayano, aunque su parámetros genéticos estimados aún no nos podrían permitir afirmar completamente que esté ocurriendo una deriva génica intensa. Una manera de reducir el impacto de la pérdida de diversidad genética en las razas, es promoviendo la formación de compuestos raciales que permitan concentrar la máxima cantidad de alelos, evitando las pérdidas causadas por la deriva génica involuntaria inducida por los agricultores (R. Sevilla, comunicación personal).

- El estudio del manejo y uso de la semilla, llevado en el departamento de Lambayeque, requirió el apoyo del INIA, Junta de Riego y técnicos del Ministerio de Agricultura, con quienes se coordinó la selección de 9 distritos para la toma de la encuesta, haciendo un total de 169 agricultores que cultivan maíz. No se han considerado aquellos agricultores que siembran otros cultivos como caña de azúcar, arroz, zapallo loche, etc. Se ha georeferenciado y documentado acerca de los maíces raciales locales y variedades de MAD que cultivan. De todos los entrevistados, hay algunos que sólo cultivan MAD y su factor limitante es la disponibilidad de agua ya que dependen de la reserva de Tinajones; así, el año 2011 tuvieron una restricción al uso del agua muy fuerte por la sequía. Otros agricultores de la zona occidental de la carretera Panamericana Norte, siembran arroz en noviembre y cosechan por abril, luego siembran el maíz criollo (mochero) y en menor proporción Alazán que crecen con la humedad del suelo, no requiriendo suplementos de riego. En caso de tener pozo y extraer agua del sub suelo, algunos agricultores acostumbran a sembrar en la campaña principal MAD (noviembre – abril) y en la campaña secundaria siembran MAD de segunda (semilla obtenida de la cosecha principal – F<sub>2</sub>). Algunos siembran MAD y maíz criollo amiláceo, sin embargo, manifiestan no convenirles sembrar el maíz blanco por ser más susceptible a las plagas, enfermedades, por el menor rendimiento y precio.

- Por las características de las tenencias de tierras, las parcelas varían entre 1 a 4 Ha, por lo que existen algunas parcelas donde se encuentran plantaciones de MAD separadas de los maíces raciales locales desde 1.5m hasta más de 200 m. La ocurrencia de cruzabilidad entre MAD y los maíces raciales locales es evitada en algunas zonas de Túcume, ya que los agricultores acostumbran a sembrar en épocas diferentes del año: MAD en noviembre hasta abril y luego maíz criollo. En Illimo, algunos siembran simultáneamente ambos maíces asociado a frijol o lenteja y saben que se cruzan las plantas que están más cercanas, ya que aparecen en las mazorcas del maíz criollo granos con endospermo amarillo (granos pintados). Sin embargo, esas mazorcas no son utilizadas para obtener semilla para la siguiente campaña, pero la utilizan para su consumo o como alimento para los animales de sus huertas. En lugares como Ferreñafe, hay agricultores que sólo cultivan MAD con fines comerciales; aunque colocan una o dos filas maíz blanco en el perímetro para que no les roben las mazorcas de MAD en épocas de cosecha. Luego, consumen el maíz choclo y también lo usan para alimentar sus animales (cerdos, gallinas). La semilla del maíz blanco la adquieren en los mercados locales o en el mercado mayorista de Mochoqueque.
- En relación a la evaluación del estado fitosanitario de MAD y maíz choclo, este último presentó niveles de incidencia para el virus del mosaico del maíz en Lambayeque, que varían de un campo a otro y van desde 100% a 10%, dependiendo del manejo que realiza el agricultor sobre los insectos vectores. En la Irrigación Santa Rosa el ataque del virus alcanzó un 100%. En Reque, el carbón del maíz se encontró en un 80% de los campos visitados. La Roya sólo se apreció en un campo, con 2% de incidencia. En cuanto al MAD, 95% de los agricultores siembran híbridos procedentes de Monsanto, Pioneer y Syngenta. En los que se ha observado pudriciones internas del tallo causadas por *Fusarium verticillioides*, *Acremonium* sp. También, manchas foliares causadas por *Phyllachora graminis*, en Lambayeque, La Libertad, el Valle de Chao, en Huaral donde alcanzó incidencias de 100%. Esta enfermedad es considerada emergente en nuestro país.
- Hemos observado que la problemática fitosanitaria del maíz choclo (tipo cuzqueño) y el MAD, depende de la zona de cultivo y de las condiciones medioambientales (rangos de temperatura, humedad requerida por el patógeno). No hemos encontrado el desarrollo de enfermedades detectadas en MAD que hayan afectado a las plantas de maíz choclo.
- La evaluación del estado de las plagas se llevó a cabo en las mismas parcelas donde se evaluaron las enfermedades. Observando que *Spodoptera frugiperda* fue la principal y más agresiva plaga que afecta a maíces choclo y a MAD. En Lambayeque, La Libertad, Pisco, la infestación alcanza del 80 al 100%. Otras especies que llaman la atención son *Sthanaaridea carmelitana* y Dolichopodidae (posiblemente del género *Thrypticus* spp, aunque se continúan evaluando debido a lo delicado que es el insecto) con características de plaga emergente, considerando que antes no se la reportaba en esa categoría. Los niveles de infestación para cada una de las dos especies en la costa norte fue 50% y 30% respectivamente; entre 60 a 80% en Barranca y entre 90 a 100% en Pisco. En Barranca, donde se cultiva mayoritariamente MAD se ha encontrado *Diatraea saccharalis*, un insecto propio de la caña de azúcar, infestando entre un 90 a 100% de las plantas, probablemente por la cercanía a los campos de cultivo de caña de azúcar.
- Para la detección de presencia de eventos de maíz GM en campo, el INIA, ha llevado la extracción del ADN por el método CTAB 2%, formando 3 bulks de hojas de 5 individuos diferentes; luego, los ADNs se juntaron en una sola solución que representa a un campo. Esto se repitió para un total de 66 campos. En las muestras de grano el ADN se extrajo a partir de moler 700 granos de un total de 2000 por cada campo, mezclándose muy bien y tomando 200 mg de harina. Se están probando los cebadores y se espera tener resultados a fines del mes de agosto del 2012.
- De las parcelas experimentales, la primera parcela (Figura 1), fue cultivada en el periodo de verano, donde las condiciones de temperaturas fueron inapropiadas para el maíz blanco, no permitieron la formación de granos en las mazorcas; además, se apreció un muy

alta vulnerabilidad a las plagas y enfermedades, sobre todo en la variedad Pardo. Las mazorcas que pudieron obtenerse no permitieron generar información confiable; sin embargo, los resultados obtenidos los observamos en las Figuras 6 y 7, donde notamos que a menores distancias la cruzabilidad es alta, pero luego de 20 metros es muy baja, alcanzando un valor de 0.13% a los 50 metros. En la parcela establecida en Lambayeque, se evaluó la cruzabilidad a los distanciamientos 1m, 3m, 5m, 10m, 15m, 30m y 50m, observándose que para el maíz Pardo a un metro alcanzó 67.80% y a 50m el porcentaje descendió a sólo 0.04. En el maíz Chancayano, a un metro el porcentaje de cruzabilidad fue 45.14 y a 50m desciende a 0.13% (las figuras 8 y 9 ilustran las tendencias en ambos tipos de maíces). El segundo ensayo de cruzabilidad establecido en la UNALM, se evaluó a 1, 3, 5, 10 y 15 metros en maíces raciales Chancayano, Alazan y Mochero. Podemos observar en las figuras 10, 11 y 12 que los valores porcentuales fueron muy bajos (menos de 1% en el maíz Chancayano, entre 2 a 11.63% para el maíz Alazan y menos de 1% para el maíz Mochero). Sin embargo, los coeficientes de variación alcanzaron en algunos casos valores superiores a 300%, lo que indica que deben realizarse nuevos ensayos de comprobación.

- Para poder complementar las evaluaciones de cruzabilidad, hemos diseñado y preparado 3 cebadores a partir del análisis de la región consenso de 59 secuencias reportadas en la base de datos NCBI, relacionadas al locus Yellow Endosperm (Y): 5'-CTTCTCTCCACGTCTCTCC-3' (Y1); 5'-ACCAGTCAGCAGAACAGC-3' (Y2), 5'-TGGCCATATATTTGCTATCTTATCC-3' (Y3). Estos se han probado entre los maíces amarillos y los maíces amiláceos, a fin de saber si pueden servir de marcadores moleculares para la verificación de ocurrencias de cruza entre ambos tipos de maíces y que no pudieron detectarse a través de la presencia del carácter endospermo amarillo (zenia). Hasta la fecha, hemos observado que entre el par de cebadores Y1/Y3, se presenta un fragmento de ADN de alrededor de 300 pb sólo en los maíces amiláceos y ausente en los amarillos; un comportamiento semejante apreciamos en el marcador producido por la pareja de cebadores Y1/Y2, donde el fragmento resultó de menor tamaño (alrededor de 200 pb), Figura 13. Se ha realizado amplificaciones con los sets de cebadores, formando bulks de ADN de 5 individuos para cada tipo racial; del mismo modo, se procedió con los híbridos, incluyendo a un híbrido de Syngenta. Los resultados obtenidos fueron semejantes a los ensayos anteriores; es decir, se presentaron los mismos fragmentos sólo en los maíces amiláceos y no se presentó fragmento en ningún híbrido de MAD. Nosotros proponemos estos fragmentos para estudiarlos mediante secuenciamiento a fin de poder verificar si estamos o no con un potencial marcador de Xenia para maíces amiláceos, incluyendo a los de granos coloreados a nivel del pericarpio como el caso de la raza Alazán.

- Se viene preparando el Compendio “Biología del Maíz en Apoyo a la Toma de Decisiones en Bioseguridad” a ser lanzado en el mes de Octubre próximo.

- Se viene culminando la redacción de la Tesis de Maestría titulada: Desarrollo de una línea molecular base para la evaluación del flujo génico entre el maíz amarillo duro (*Zea mays* L. var. **Indurata**) y amiláceo (*Zea mays* L. var. **Amylacea**). Se continúa la gestión en la Escuela de Post Grado para la sustentación de la tesis.

Tabla 1. Número de alelos diferentes de 10 loci microsatélites en las maíces raciales locales de costa norte comparadas con su equivalente en el Banco de Germoplasma de la UNALM

Locus SSR	Número de Alelos								
	Alazán Bco	Alazán Túcume	Alazán Illimo	Mochero Bco	Mochero Túcume	Mochero Mochumí 1	Mochero Mochumí 2	Chancayano Bco	Chancayano INIA
Bnlg 1169	3	8	7	5	5	7	10	4	6
Phi 116	5	5	4	5	5	6	6	5	3

Bnlg 1839	4	6	4	5	4	6	6	4	4
Phi 093	2	4	4	3	4	5	5	2	1
Phi 227562	6	5	6	5	5	5	6	3	4
Umc 1153	4	5	5	6	6	5	6	3	3
Phi 056	5	4	3	5	5	6	4	3	2
Phi 113	2	2	2	4	3	2	3	2	2
Phi 109188	3	4	6	5	4	5	7	3	3
Phi 034	2	3	5	4	3	5	1	1	3
Prom N° Alelos	3.6	4.6	4.6	4.7	4.4	5.2	5.4	3	3.1

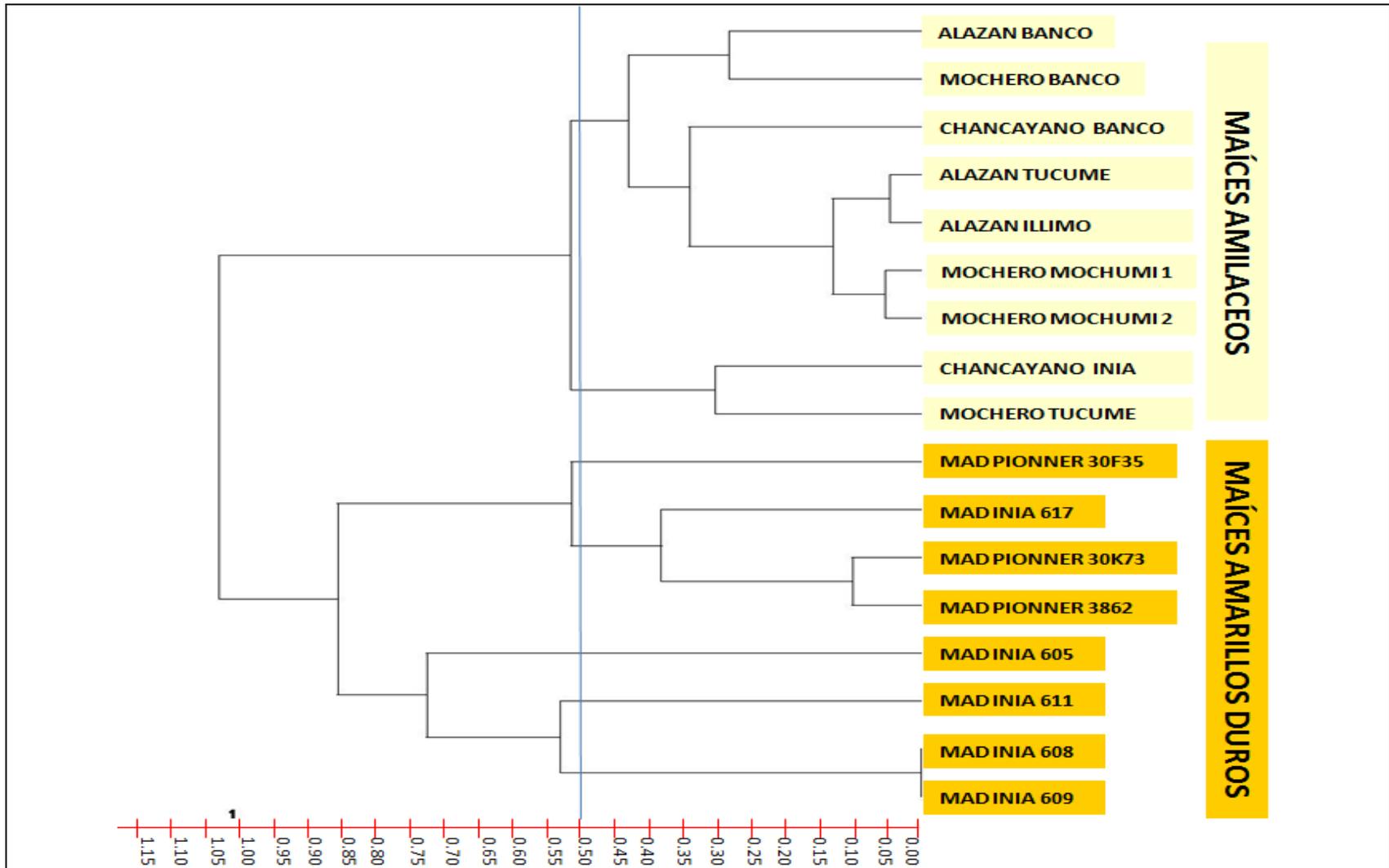


Figura N°4 Dendograma y matriz de distancias genéticas de Nei entre maíces amiláceos raciales del Banco de Germoplasma (B), de campo (AL= Alazán, MO = Mochero, CH = Chancayano) y de maíces amarillos duros (HI-P1,HI-P2, HI-P3, HI-I1,I2,I3,I4,I5), generados por microsatélites

pop	AL-B	MO-B	HI-P1	HI-P2	HI-P3	HI-I1	HI-I2	HI-I3	HI-I4	HI-I5	CH-B	CH-I	MO-T	AL-T	AL-I	MO-M1	MO-M2
AL-B	****	0.7602	0.4196	0.3972	0.3866	0.3975	0.7106	0.5474	0.6959	0.524	0.5078	0.4656	0.5595	0.6434	0.6442	0.6666	0.6531
MO-B	0.2742	****	0.4092	0.4516	0.3152	0.3621	0.5583	0.3694	0.552	0.4533	0.7046	0.5033	0.5774	0.709	0.7188	0.6986	0.743
HI-P1	0.8683	0.8935	****	0.9033	0.6315	0.4112	0.4978	0.3696	0.4381	0.7741	0.3687	0.2606	0.2483	0.3285	0.3201	0.4309	0.2974
HI-P2	0.9232	0.795	0.1017	****	0.603	0.3804	0.4602	0.2828	0.4155	0.629	0.3813	0.1685	0.2217	0.3361	0.3334	0.4399	0.3329
HI-P3	0.9505	1.1546	0.4596	0.5059	****	0.4251	0.531	0.3875	0.5111	0.6208	0.2948	0.3562	0.249	0.3263	0.3369	0.4275	0.3319
HI-I1	0.9226	1.016	0.8886	0.9665	0.8555	****	0.5921	0.4002	0.5492	0.3993	0.4203	0.3544	0.3692	0.3144	0.3063	0.3742	0.3118
HI-I2	0.3416	0.5828	0.6976	0.776	0.6331	0.5242	****	0.5872	0.9769	0.6819	0.409	0.5005	0.5018	0.4056	0.4227	0.4849	0.3741
HI-I3	0.6025	0.9959	0.9954	1.2632	0.9479	0.9158	0.5324	****	0.619	0.5472	0.3468	0.3107	0.4965	0.3619	0.3977	0.3666	0.3373
HI-I4	0.3626	0.5942	0.8254	0.8784	0.6712	0.5992	0.0234	0.4797	****	0.6457	0.4186	0.4605	0.4958	0.4075	0.4251	0.4559	0.3722
HI-I5	0.6462	0.7911	0.256	0.4636	0.4768	0.9181	0.3829	0.6029	0.4375	****	0.4373	0.437	0.3834	0.4268	0.4194	0.486	0.3759
CH-B	0.6776	0.3501	0.9977	0.9641	1.2214	0.8668	0.8941	1.0589	0.8708	0.827	****	0.5931	0.6252	0.7764	0.7476	0.676	0.7032
CH-I	0.7644	0.6867	1.3446	1.781	1.0321	1.0372	0.6922	1.1689	0.7755	0.8277	0.5223	****	0.7457	0.6498	0.68	0.6438	0.5856
MO-T	0.5807	0.5493	1.3932	1.5065	1.3905	0.9964	0.6895	0.7001	0.7017	0.9586	0.4697	0.2935	****	0.737	0.7557	0.6675	0.6507
AL-T	0.4409	0.3439	1.1133	1.0904	1.1198	1.157	0.9024	1.0163	0.8977	0.8515	0.2531	0.4311	0.3051	****	0.9435	0.8732	0.913
AL-I	0.4398	0.3302	1.139	1.0986	1.0878	1.1831	0.861	0.922	0.8554	0.8689	0.2908	0.3856	0.2802	0.0581	****	0.8455	0.8688
MO-M1	0.4055	0.3586	0.8418	0.8213	0.8498	0.9829	0.7239	1.0034	0.7855	0.7216	0.3915	0.4404	0.4043	0.1356	0.1679	****	0.9394
MO-M2	0.426	0.2971	1.2128	1.0998	1.1029	1.1652	0.9832	1.0867	0.9883	0.9785	0.3521	0.5351	0.4297	0.0911	0.1406	0.0625	****

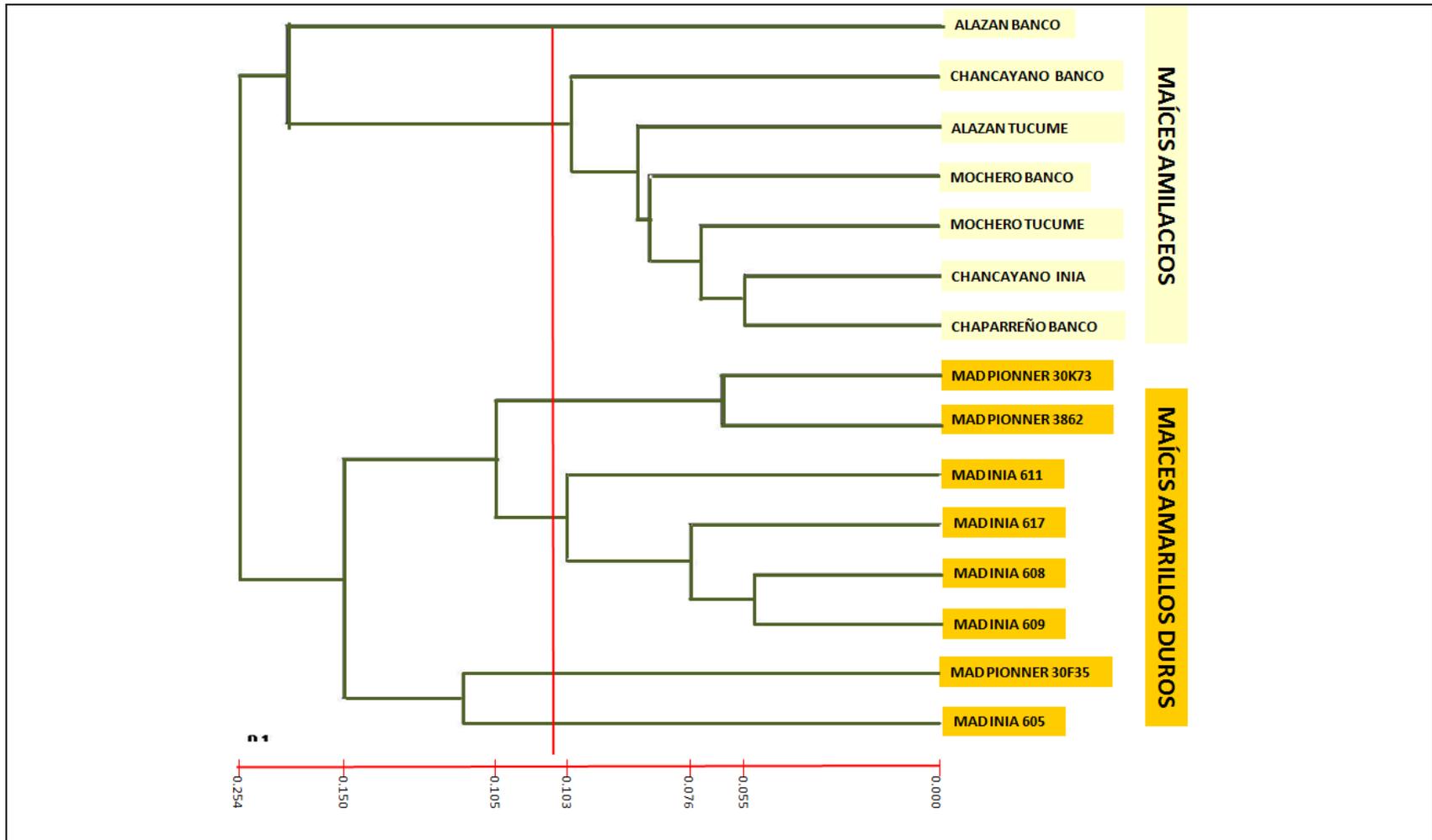


Figura N°5 Dendrograma y matriz de distancias genéticas de Nei entre maíces amiláceos raciales del Banco de Germoplasma (B), de campo (AL= Alazán, MO = Mochero, CH = Chancayano, CP = Chaparreño) y de maíces amarillos duros (HI-P1,HI-P2, HI-P3, HI-I1,I2,I3,I4,I5), generados por AFLPs

pop	AL-B	AL-T	CH-B	CH-I	CP-B	MO-B	MO-T	HI-P1	HI-P2	HI-P3	HI-I1	HI-I2	HI-I3	HI-I4	HI-I5
AL-B	****	0.8822	0.8379	0.8202	0.8602	0.8515	0.8521	0.8212	0.8115	0.8185	0.7779	0.8131	0.7859	0.8299	0.8376
AL-T	0.1253	****	0.8881	0.9141	0.9459	0.925	0.9255	0.8655	0.8517	0.844	0.8212	0.8809	0.8435	0.8956	0.8782
CH-B	0.1768	0.1186	****	0.9188	0.9212	0.927	0.9082	0.8404	0.8417	0.83	0.7698	0.8412	0.8267	0.853	0.8562
CH-I	0.1982	0.0898	0.0847	****	0.9526	0.908	0.9358	0.8223	0.8222	0.8147	0.7802	0.8449	0.8062	0.8551	0.8613
CP-B	0.1505	0.0556	0.082	0.0486	****	0.9434	0.9486	0.8528	0.8454	0.8307	0.7884	0.8619	0.8467	0.8754	0.8781
MO-B	0.1608	0.078	0.0758	0.0965	0.0583	****	0.94	0.869	0.8599	0.8507	0.7802	0.8589	0.8291	0.8808	0.8609
MO-T	0.16	0.0774	0.0962	0.0664	0.0528	0.0619	****	0.8732	0.8689	0.8537	0.8089	0.8767	0.8401	0.9044	0.8756
HI-P1	0.1969	0.1444	0.1738	0.1957	0.1592	0.1404	0.1356	****	0.9471	0.8829	0.8651	0.8814	0.8526	0.9087	0.9046
HI-P2	0.2089	0.1606	0.1724	0.1958	0.1679	0.1509	0.1406	0.0544	****	0.9043	0.8651	0.9112	0.8633	0.922	0.9247
HI-P3	0.2002	0.1696	0.1863	0.205	0.1855	0.1617	0.1582	0.1246	0.1006	****	0.8883	0.8756	0.8351	0.881	0.8877
HI-I1	0.2512	0.197	0.2616	0.2482	0.2377	0.2481	0.2121	0.1449	0.1449	0.1184	****	0.8514	0.7977	0.8577	0.8518
HI-I2	0.2068	0.1268	0.173	0.1686	0.1486	0.1521	0.1316	0.1262	0.093	0.1328	0.1608	****	0.9223	0.9548	0.9444
HI-I3	0.241	0.1702	0.1903	0.2155	0.1664	0.1874	0.1742	0.1594	0.1469	0.1802	0.2261	0.0809	****	0.9086	0.9037
HI-I4	0.1864	0.1103	0.159	0.1566	0.1331	0.1269	0.1004	0.0957	0.0812	0.1267	0.1535	0.0462	0.0958	****	0.9351
HI-I5	0.1772	0.1299	0.1552	0.1494	0.13	0.1498	0.1328	0.1003	0.0783	0.1191	0.1604	0.0572	0.1012	0.0671	****

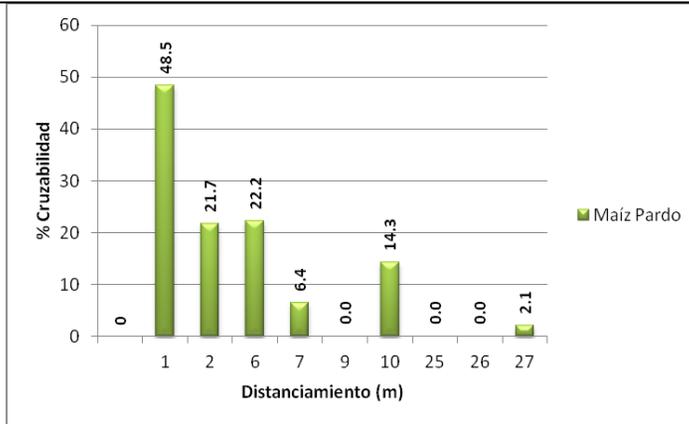


Figura N° 6 Porcentaje de cruzabilidad a diferentes distancias entre MAD y maíz Pardo según presencia de “xenia”, Parcela en la UNALM, Lima (primer ensayo).

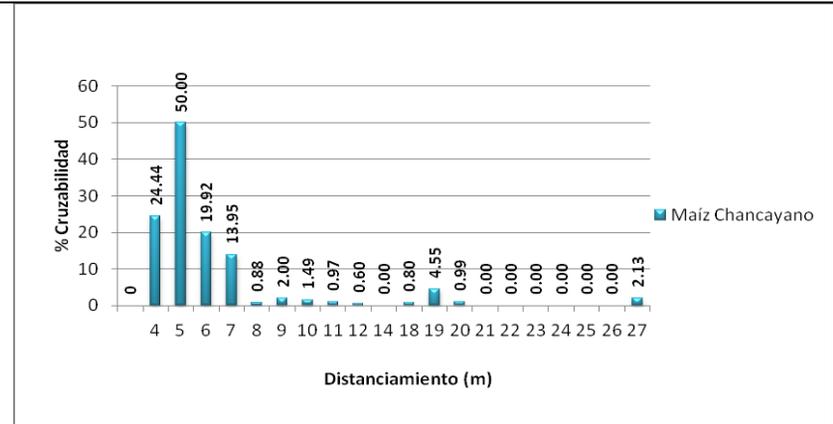


Figura N° 7 Porcentaje de cruzabilidad a diferentes distancias entre MAD y maíz Chancayano según presencia de “xenia”, Parcela en la UNALM, Lima (primer ensayo).

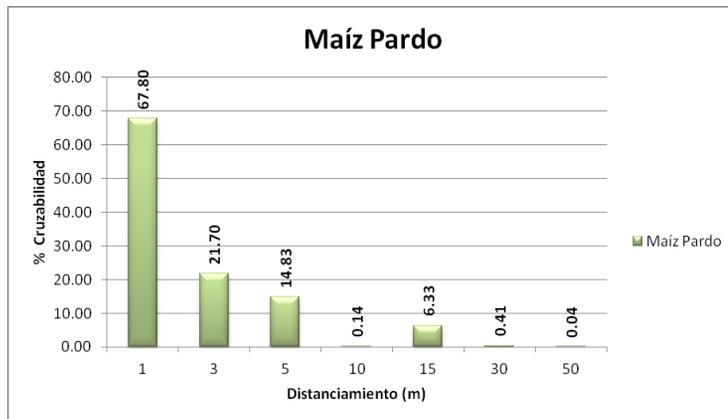


Figura N° 8 Porcentaje de cruzabilidad a diferentes distancias entre MAD y maíz Pardo según presencia de “xenia” Parcela en Lambayeque.

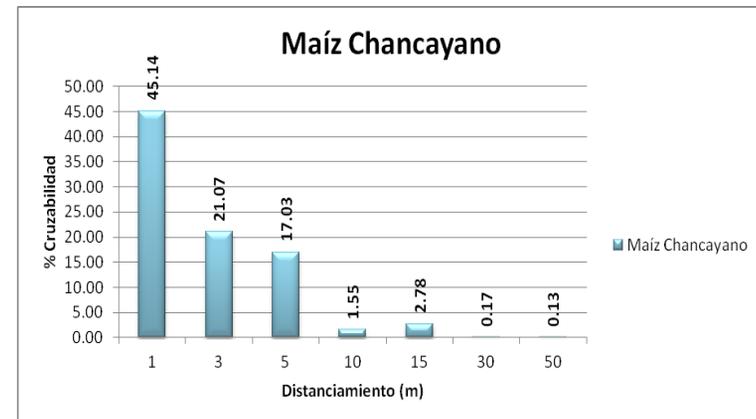


Figura N° 9 Porcentaje de cruzabilidad a diferentes distancias entre MAD y maíz Chancayano según presencia de “xenia” Parcela en Lambayeque.

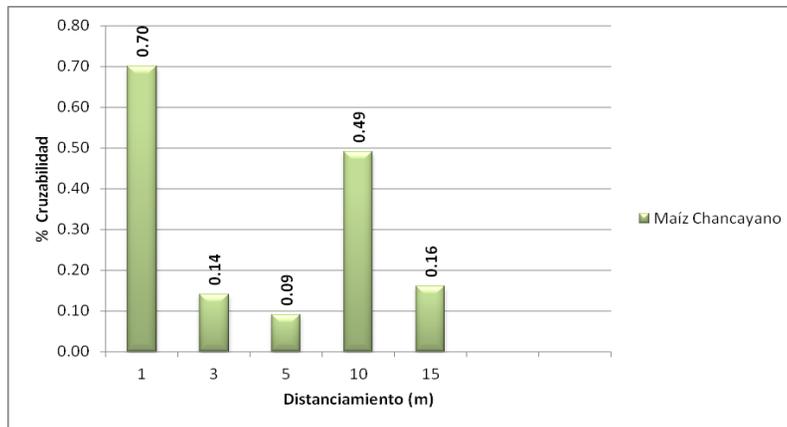


Figura N° 10 Porcentaje de cruzabilidad a diferentes distancias entre MAD y maíz Chancayano según presencia de “xenia”, Parcela en la UNALM, Lima (segundo ensayo)

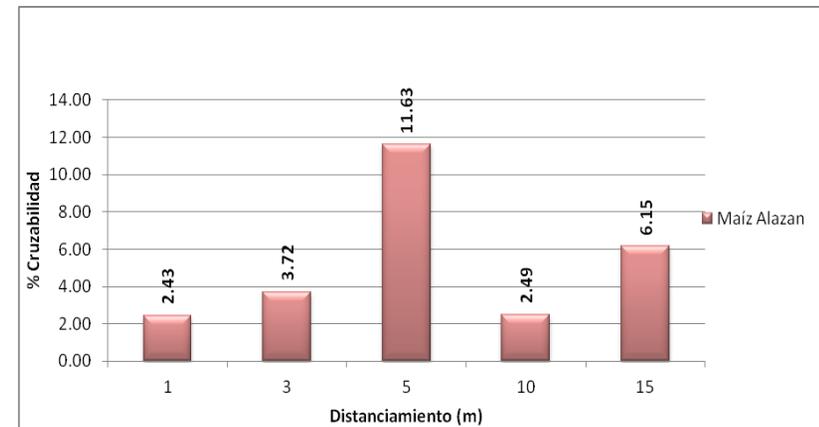


Figura N° 11 Porcentaje de cruzabilidad a diferentes distancias entre MAD y maíz Alazan según presencia de “xenia”, Parcela en la UNALM, Lima (segundo ensayo)

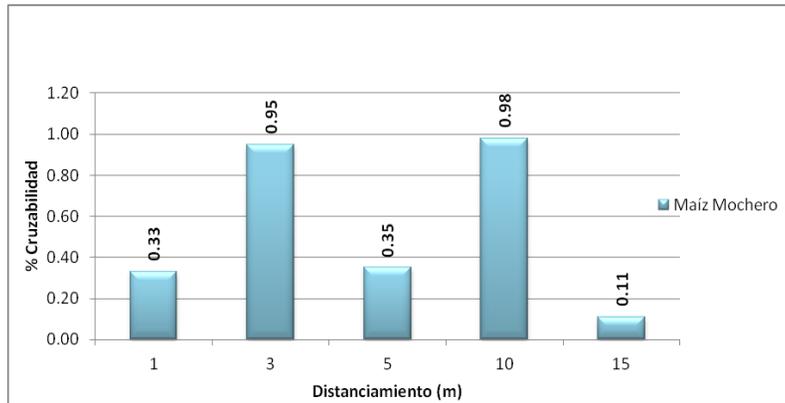


Figura N° 12 Porcentaje de cruzabilidad a diferentes distancias entre MAD y maíz Mochero según presencia de “xenia”, Parcela en la UNALM, Lima (segundo ensayo).

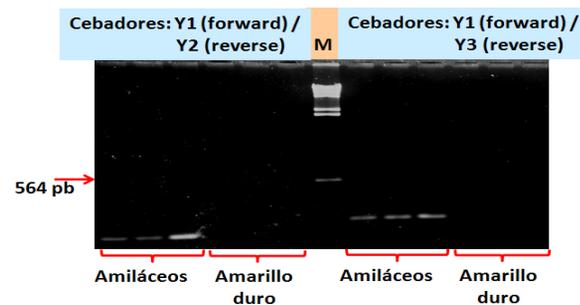


Figura N° 13 Posibles marcadores del locus Y para evaluar la ocurrencia de “xenia”



## • CONCLUSIONES

Hemos obtenido la línea de base del estado de la diversidad genética y alélica de los maíces raciales locales del banco de germoplasma y de las cultivadas en Lambayeque, observando un alto polimorfismo y una buena estructura poblacional que indican que los maíces raciales locales luego de más de 50 años de coexistencia con MAD, no han sufrido evidencias de erosión génica que las pongan en estado vulnerable a causa de una deriva génica intensa; así mismo, no hemos observado que los maíces raciales locales se hayan visto afectados por el flujo génico desde los maíces amarillos convencionales.

Molecularmente, hemos demostrado que los maíces amarillos duros están marcadamente diferenciados genéticamente de los maíces amiláceos raciales, por lo que podemos inferir que no han ocurrido eventos de flujo génico entre ellos que hayan afectados sus características.

En el manejo de las semillas, los agricultores constituyen la fuente de manutención del polimorfismo alélico y la alta diversidad genética por las maneras como comercializan y se abastecen de semillas de sus maíces raciales locales. Sin embargo, la susceptibilidad a plagas, enfermedades, bajos rendimientos y bajos precios de los maíces amiláceos locales podrían constituir un riesgo para la pérdida de la diversidad; aunque siempre habrá agricultores que sembrarán esos maíces para satisfacer sus necesidades culinarias y costumbres culturales.

Sobre el estado fitosanitario y pestil, las enfermedades que atacan a los maíces raciales locales difieren de las que afectan al MAD; sin embargo, no sucede lo mismo con las plagas que si dañan a ambos tipos de maíces. No se reportan evidencias que las pestes artrópodas provenientes de los híbridos convencionales hayan afectado a la producción de las razas nativas.

La cruzabilidad entre maíces amiláceos y MAD ocurre de manera significativa a menores distanciamientos; sin embargo, se observa un decrecimiento importante a distanciamientos mayores a 20 m (0.13% a 50 m). Sin embargo, se requieren nuevos ensayos para la verificación de la información.

Se viene comprobando la presencia de dos posibles marcadores mediante PCR del locus Yellow Endosperm (Y) para diferenciar maíces amarillos de amiláceos blancos. Ambos marcadores se vienen presentando sólo en los amiláceos y no en los amarillos. Pero falta más comprobación y evaluarlo posteriormente mediante secuenciamiento.

## • BIBLIOGRAFÍA

- Baltasar M., Sánchez-Gonzales J.J., De la Cruz L. & Schoper J.B. 2005. Pollination between maize and teosinte: an important determinant of gene flow in Mexico. *Theor Appl Genet.* 110: 519-526.
- Bannert M. 2006. Simulation of transgenic pollen dispersal by use of different grain colour maize. Thesis Doctor of Sciences. Technical University Munich, Germany.
- Centro Internacional de la Papa (CIP). 1997. Protocolos de Laboratorio de Biología Molecular. Lima, Perú.
- Ciofi C., Funk S.M., Coote T., Cheesman D.J., Hammond R.L., Saccheri I.J., Bruford M.W. 1998. Genotyping with Microsatellite Markers. En *Molecular Tools for Screening Biodiversity: 195-201*. Editado por A. Karp, P. Isaac & D. Ingram. Chapman & Hall. Londres, Inglaterra.
- Doyle J.J. & Doyle J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Ferreira M.E. & Grattapaglia D. 1998. Introducción al uso de Marcadores Moleculares en Análisis Genético. Embrapa. Brasilia, Brasil.
- George M.L., Regalado E., Warburton M., Vasal S. & Hoisington D. 2004. Genetic diversity of Maize inbred lines in relation to downy mildew. *Euphytica* 135: 145-155.

- Grobman A. 2005. Magnitud e impacto potencial de la liberación de organismos genéticamente modificados y sus productos comerciales Caso: Comercialización y consumo de organismos genéticamente modificados y sus productos derivados en el Perú. p. 99-111. En O. Hidalgo; W. Roca; E.N.Fernandez-Northcote (eds.). Magnitud e impacto potencial de la liberación de organismos genéticamente modificados y sus productos comerciales: Casos Algodón, Leguminosas de grano, Maíz y Papa. Consejo Nacional del Ambiente. Lima, Perú.
- Grobman A., Salhuana W., Sevilla R. & Mangelsdorf E. 1961. Races of maize in Peru; their origin, evolution and classification. National Academy of Science-National Research Council. Pub. 915. Washington DC.
- Gustafson D., Brants I., Horak M., Remund K., Rosenbaum E. & Soteres J. 2006. Empirical modelling of genetically modified maize grain production practices to achieve European Union Labelin Thresholds. *Crop Sci.* 46: 2133-2140.
- Gustafson D., Horak M., Rempel C., Metz S., Gigax D. & Hucl P. 2005. An empirical model for pollen-mediated gene flow in wheat. *Crop Sci.* 45: 1286-1294.
- Halsey M.E., Remund K., Davis C., Qualls M., Eppard P. & Berberich S. 2005. Isolation of maize from pollen-mediated gene flow by time and distance, *Crop Sci.* 45: 2172-2185.
- IBPGR. 1991. Descriptores para maíz. Centro Internacional de Mejoramiento del Maíz y Trigo/ Internacional Board for Plant Genetic Resources, Roma.
- Izquierdo M. 2001. Ingeniería genética y transferencia génica. Ed. Pirámide, Madrid.
- Lopez C., Sanchez E., Mansilla R., Calderon A., Quinteros Z. & Yglesias E. 2005. Estudio para lograr la denominación de origen del “maíz blanco gigante Cusco del Valle Sagrado de los Incas Urubamba”. INDECOPI-Of. De Signos Distintivos.
- Maize Genetics and Genomics Database ([www.maizegdb.org/ssr.php](http://www.maizegdb.org/ssr.php)).
- Manrique Ch.A. 1988. El maíz en el Perú. Fondo de Promoción de la Cultura Agraria, Banco Agrario del Perú. Ed. Edigraf, Lima, Perú. 276.
- Matus-Cadiz M., Hucl P., Dupuis B. 2007. Pollen-mediated gene flow in wheat at the commercial scale. *Crop Sci.* 47: 573-581.
- Matus-Cadiz M., Hucl P., Horak M. & Blomquist L. 2004. Gene flow in wheat at the field scale. *Crop Sci.* 44: 718-727.
- Ministerio de Agricultura del Perú <http://www.minag.gob.pe/boletines/boletin-del-maiz-del-año-2008.html>
- Moeller D. & Schaal B. 1999. Genetic relationships among native american Maize accessions of the great plains assessed by RAPDs. *Theor Appl Genetics* 99: 1061-1067.
- Muhammad L. & Underwood E. 2004. The maize agricultural context in Kenya pp: 21 – 56. In: Environmental Risk Assessment of Genetically Modified Organisms. Vol 1. A case study of Bt Maize in Kenya. Hilbeck, A., D. Andow, Ed. 281pp.
- Ngugi, H. K., King, S. B., Abayo, G. O., and Reddy, Y. V. R. 2002. Prevalence, incidence, and severity of sorghum diseases in western Kenya. *Plant Dis.* 86:65-70.
- Onishi M., Matsuoka T., Kodama T., Kashiwaba k., Futo S., Akiyama H., Maitani T., Furui S., Oguchi T. & Hino A. 2005. Development of a multiplex polymerase chain reaction method for simultaneous detection of eight events of genetically modified maize. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 53: 9713-9721.
- Ortiz-García S., Escurra E., Schoel B., Acevedo F., Soberón J. & Snow A.A. 2005. Absence of detectable transgenes in local landraces of maize in Oaxaca, México (2003-2004). *Proc.Nac.Acad.Sciences (USA)* 102, 35:12338-12343.
- Paul, P. A., El-Allaf, S. M., Lipps, P. E., and Madden, L. V. 2005. Relationships between incidence and severity of Fusarium head blight on winter wheat in Ohio. *Phytopathology* 95:1049-1060.
- Pla M., La Paz J., Peñas G., García N., Palauelmas M., Esteve T., Messeguer J. & Melé E. 2006. Assessment of real-time PCR based methods for quantification of pollen-mediated gene flow from GM to conventional maize in a field study. *Trasnsgenic Research.* 15: 219-228.
- Piñeyro-Nelso A., Van Heerwaarden J., Perales H.R., Serrato J.A., Rangel A., Hufford M.B., Gepts P., Garay A., Riverabustamante R., Alvarez E.R. 2009. Transgenes in Mexican maize: molecular evidence and methodological considerations for GMO detection in landrace populations.

Molecular Ecology 18, 750-761.

- Ritala A., Nuutila A., Aikasalo R., Kauppinen V. & Tammissola J. 2002. Measuring gene flow in the cultivation of transgenic barley. *Crop Sci.* 42: 278-285.
- Rossini L., Carneiro, Lopes de Souza C. & Perira A. 2003. Genetic-diversity assessed by microsatellites in tropical Maize populations submitted to a high-intensity reciprocal recurrent selection. *Euphytica* 134: 277-286.
- Segovia V., Machin A., Pérez M., Fuentesmayor F. 1999. Origen, historia y evolución del maíz Venezolano. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP). <http://www.ceniap.gov.ve/pbd/Monografias/maiz/orimaiz.htm>
- Sevilla R. 2005. Magnitud e impacto potencial de la liberación de organismos genéticamente modificados y sus productos comerciales Caso: Maíz. p. 41-61. En O. Hidalgo; W. Roca; E.N.Fernandez-Northcote (eds.). Magnitud e impacto potencial de la liberación de organismos genéticamente modificados y sus productos comerciales: Casos Algodón, Leguminosas de grano, Maíz y Papa. Consejo Nacional del Ambiente. Lima, Perú.
- Warburton M., Xianchun X., Crossa J., Franco J., Melchinger A.E., Frisch M., Bohn M. & Hoisington D. 2002. Genetic Characterization of CIMMYT inbred maize lines and open pollinated populations using large scale fingerprinting methods. *Crop Sci* 42: 1832-1840.