



# Guías para la regeneración de germoplasma

# Maíz

**Suketoshi Taba<sup>1</sup> y S. Twumasi-Afriyie<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), México

<sup>2</sup> CIMMYT, Etiopía



## Introducción

El maíz (*Zea mays* L. subsp. *mays*) es un cultivo anual, endogámico y monoico que evolucionó en el sur de México, posiblemente a partir del teosinte, su pariente cercano. La(s) mazorca(s) portadora(s) de semillas se encuentran ubicadas lateralmente en los nudos medios de la planta, mientras que las inflorescencias masculinas (panículas) crecen en la parte superior de la planta. En América Latina, el maíz cuenta con más de 250 razas y cultivares locales. Algunas razas latinoamericanas de altitud

media tienen ciclos de cultivo de más de 10 meses, mientras que algunas precoces toman menos de 3 meses desde la siembra hasta la cosecha. Algunas razas miden 4-5 metros, dificultando la polinización artificial. Tradicionalmente, los fitomejoradores han clasificado los ecotipos del maíz con base en su adaptación a los ambientes en que crecen: tropicales (<1200 m), de altitud media (1200–1900 m) y de tierras altas (1900–2600 m) para los ecotipos que se dan entre los 26° Norte y los 26° Sur, y templados para los cultivares que se dan en latitudes por encima de los 26° Norte y por debajo de los 26° Sur.

La diversidad de los fenotipos y las amplias diferencias de adaptación de las razas de maíz y de los cultivares locales frecuentemente generan dificultades para la regeneración. Las accesiones de germoplasma son genéticamente heterocigotas (las poblaciones panmícticas) u homocigotas (endogámicas). Las prácticas y procedimientos recomendados para la regeneración del germoplasma de maíz, que aquí se presentan, se han recopilado a partir de la experiencia y la consulta de estudios teóricos sobre el tamaño de la muestra y el sistema de cruzamiento.

## Selección del ambiente y la época de siembra

### Condiciones climáticas

- En lo posible, seleccione un ambiente que corresponda a las condiciones del sitio donde se hizo la colecta original del material.
- En condiciones de secano, se considera óptima una pluviosidad entre 500 y 700 mm (dependiendo de las accesiones de germoplasma y de la textura del suelo); si los niveles de pluviosidad son inferiores, hay que utilizar riego suplementario.
- El germoplasma de maíz de zonas templadas se adapta a días largos ( $\geq 13.4$  horas luz). En latitudes templadas, los ecotipos tropicales por lo general necesitan días más cortos para iniciar la floración.
- La regeneración de razas o variedades nativas de maíz adaptadas a climas templados, con ciclos de cultivo de más de 10 meses, como las que se encuentran en las tierras de altitud media de los Andes, América Central y el sur de México, requerirá la colaboración con bancos de germoplasma nacionales.
- El maíz puede crecer dentro de un rango de temperatura entre los 5 y 45°C, pero generalmente se comporta mejor entre los 25 y 35°C. Temperaturas extremadamente altas, especialmente si coinciden con una humedad baja, pueden reducir la viabilidad del polen y causar un mal establecimiento de la semilla.

## Preparación para la regeneración

### Cuándo regenerar

- Cuando el número de semillas viables por accesión en una colección activa o en una colección base de poblaciones panmícticas sea inferior a 1500 y a 250 semillas en líneas endogámicas.
- Cuando el monitoreo de la viabilidad de la semilla de una colección activa indique que ésta ha descendido por debajo del 85% del porcentaje de germinación inicial (consultar FAO/IPGRI 1994; ISTA 2008 para mayor información).

### Tratamientos previos

- Se recomienda aplicar un fungicida y un insecticida a la semilla para ayudar a proteger la emergencia y el crecimiento de las plántulas en el campo.

### Precauciones

- Para las poblaciones panmícticas, mantenga un tamaño de población equivalente y grande ( $>100$  mazorcas o más de cuatro veces el tamaño inicial de la muestra, lo que sea menor) durante todos los ciclos de regeneración, para evitar la deriva genética, la endogamia y la consiguiente pérdida de alelos (Crossa 1989; Crossa *et al.* 1994; Wang *et al.* 2004).
- Con el fin de proporcionar semillas de calidad para intercambio y utilización, antes y después de la regeneración, inspeccione y seleccione las plantas a partir de las cuales se va a producir semilla para detectar plagas o enfermedades que estén incluidas en las normas de cuarentena (Mezzalama *et al.* 2001).

- Tome precauciones adicionales si hay riesgo de contaminación por organismos modificados genéticamente (OMG). Después de regenerar, inspeccione los lotes de semilla para detectar la presencia de OMG y elimine los lotes contaminados (Mezzalama *et al.* 2001).

## Método de regeneración

Regenere el maíz utilizando polinización controlada.

### Polinización artificial

Este método es el más frecuentemente utilizado para la regeneración y multiplicación de accesiones de germoplasma. Se puede hacer mediante cruzamientos planta a planta o por cruzamientos en cadena. Las cruces en cadena se recomiendan cuando se va a regenerar un número considerable de accesiones.

- Cruzamientos planta a planta (modo dioico) —utiliza la misma planta como planta masculina y como planta femenina. Requiere el doble de área que los cruzamientos en cadena para producir el mismo número de mazorcas y duplica el tamaño de la población efectiva (si se cosechan 100 mazorcas, la población efectiva es de 200).
- Cruzamientos en cadena (modo monoico) —utiliza cada planta como planta masculina y femenina.

### Procedimiento

1. Cubra el pedúnculo de la mazorca de cada planta con una bolsa o sobre de glassine antes de que las fibras sedosas emerjan (foto 2)
  2. Ponga una bolsa de polinización a recoger el polen de las flores masculinas (panículas) el día anterior a la polinización (foto 3)
  3. A la mañana siguiente, flexione y sacuda la planta ligeramente para recoger el polen en la bolsa de la panícula (foto 4)
  4. Retire la cubierta de glassine de las fibras sedosas de la planta femenina y polinice las fibras con el polen de la bolsa de la panícula.
  5. Vuelva a cubrir inmediatamente las fibras sedosas con el sobre de glassine y las panículas con la bolsa de polinización y déjelas cubiertas hasta la cosecha
- Recuerde que se requiere una buena sincronización entre la formación de las fibras sedosas y la formación de la inflorescencia masculina
  - Realice la polinización antes de que la temperatura alcance los 36°C.

### Polinización natural o abierta

- Se puede usar polinización natural (*i.e.*, modo de polinización abierta para la fecundación de la semilla) si la regeneración se lleva a cabo en fincas, mediante contratos con los agricultores que cultivan razas locales de maíz específicamente adaptadas a estas condiciones de cultivo. En estas circunstancias, utilice parcelas aisladas en los campos de los agricultores.
- De las parcelas de campo destinadas a la regeneración mediante polinización abierta, recoja una muestra grande de semillas (3-5 kg) para los bancos activo y base.

### Prevención de contaminación con OMG

- Cuando se está haciendo polinización artificial, hay que evitar que la parcela de regeneración se contamine con OMG procedentes de polen que haya migrado de

afuera hacia la parcela. Cubra las fibras sedosas con sobres de glassine de cierre hermético y las panículas con bolsas de polen, y prosiga a efectuar la polinización de manera rápida y precisa.

- Si teme que pueda haber algún riesgo de contaminación, siembre plantas centinelas en los bordes (materiales bien adaptados, híbridos o variedades) para detectar la introducción inadvertida de transgenes provenientes de afuera y de adentro del campo de regeneración. A esas plantas hay que quitarles las panículas y polinizar sus fibras sedosas de manera abierta con las mezclas de polen que migran desde diversas fuentes hacia las parcelas de regeneración. Revise si hay introducción inadvertida de OMG en los compuestos de semilla de las hileras de plantas centinela (Mezzalama *et al.*, 2001).

### **Inducción de la floración**

- En climas templados se puede inducir la iniciación de la floración de accesiones tropicales de maíz sensibles al fotoperíodo manteniéndolas en condiciones de sombra durante 8 horas diarias durante 6 a 8 semanas después de la siembra, permitiendo que una cantidad limitada de dichas accesiones se pueda polinizar y cosechar (Mark Millard, comunicación personal). Utilice esta técnica una vez al año para regenerar una cantidad reducida de accesiones tardías.

### **Distribución espacial de las parcelas, y densidad y distancia de siembra**

- Distribuya las parcelas de regeneración como un experimento sin repeticiones, aparte de las parcelas de mejoramiento o de producción.
- En lo posible, agrupe las accesiones con base en su madurez, altura de planta y tipo de polinización (endogámica o exogámica) en diferentes bloques para facilitar el manejo y las operaciones de campo.
- Alterne los colores de grano para facilitar la detección de polinización cruzada no deseada.
- Ajuste el tamaño de la parcela y la densidad de plantas al tipo de accesiones que vaya a regenerar. Por ejemplo, para establecer 256 plantas por parcela (60 m<sup>2</sup>), con una cosecha de más de 100 mazorcas (poblaciones panmícticas), utilice 16 hileras de 5 m de largo, con una separación de 75 cm entre hileras de cada accesión. Siembre dos semillas por montículo para establecer 16 plantas por hilera después del raleo.
- La densidad y el tamaño de la parcela apropiados se pueden determinar de acuerdo con la precocidad y la altura de planta de las accesiones.
- Siembre de 8 a 10 hileras por accesión (21 plantas por cada hilera de 5 m de largo) de líneas endogámicas para obtener 168 plantas y lograr producir suficiente cantidad de semilla. Para mantener la pureza de las líneas, siembre siempre semilla de los progenitores originales (8-19 mazorcas autopolinizadas) en las regeneraciones subsiguientes, en vez de semilla de la regeneración previa. Coseche las mazorcas autopolinizadas que muestren uniformidad de planta, mazorca y tipo de grano.
- En el caso de polinización natural, siembre las accesiones a una distancia de 200 a 300 metros entre sí, con más de 200 plantas por accesión en las parcelas de campo, para lograr 100 mazorcas bien fecundadas de medios hermanos (la población efectiva es 100) y coseche 100 mazorcas del centro de la parcela para representar la accesión.
- Si no logra producir 100 mazorcas en el proceso de regeneración (o la cantidad de semillas que se requiera), haga una segunda regeneración de la misma accesión, utilizando la misma semilla original. Combine las mazorcas de la primera y la segunda regeneración para que representen el ciclo de regeneración.

## Manejo del cultivo

El maíz generalmente se cultiva en condiciones de secano pero también se puede cultivar en condiciones de riego.

### Riego

- Aplique riego suplementario durante las épocas de sequía
- Si la regeneración se realiza con la aplicación de riego, someta el cultivo a un exceso de humedad 2 semanas antes y después de la floración puesto que esto es crítico para el buen establecimiento de la semilla y para el desarrollo de la mazorca.

### Fertilización

- Aplique al suelo suficientes nutrientes minerales para que las plantas tengan un crecimiento normal
- Realice las aplicaciones de N-P-K recomendadas antes de la emergencia y luego aplique N durante el desarrollo del cultivo.
- En los ensayos en fincas en zonas tropicales generalmente se utiliza una aplicación mínima de fertilizante (80-40-0 de N-P-K).

### Plagas y enfermedades comunes

- Se recomienda contactar a expertos en sanidad vegetal para identificar los síntomas de posibles plagas y enfermedades, y las medidas de control apropiadas. Las siguientes son plagas y enfermedades comunes al maíz:
- En las regiones tropicales, los tierreros, los trozadores, los trips, *Dalbulus maidis*, *Cicadulina* spp., *Spodoptera frugiperda*, y otros insectos atacan las raíces, las hojas y los tallos (Ortega 1987).
- Las enfermedades que afectan las hojas, los tallos y los granos son el oidio veloso, la roya del maíz, el tizón de la hoja por *Turcicum* y *Maydis*, la mancha gris de las hojas, la pudrición del tallo por *Pythium*, *Fusarium* y *Gibberella*, *Stenocarpella* (syn. *Diplodia maydis*) y la antracnosis (*Collectotrichum graminicola*), la pudrición de la mazorca por *Penicillium*, *Aspergillus*, *Stenocarpella*, *Fusarium* y *Gibberella*, la pudrición del grano por *Cephalosporium*, el carbón común (*Ustilago maydis*), el virus del mosaico del enanismo del maíz, el virus del rayado del maíz, el virus del rayado fino del maíz, el enanismo arbustivo del maíz, y el achaparramiento del maíz (The CIMMYT Maize Program 2004).

### Control de plagas y enfermedades

Solicite el diagnóstico y el consejo de un experto en sanidad vegetal.

- Reduzca el daño ocasionado por insectos aplicando el insecticida adecuado a tiempo. Tenga en cuenta, sin embargo, que las enfermedades de la hoja y del tallo, y la pudrición de la mazorca son difíciles de controlar.
- Obtenga información sobre la incidencia de plagas y enfermedades en cada región y evite los focos de infestación/infección de plagas y enfermedades.
- El exceso de humedad o el estrés por sequía agravan el problema.
- Durante el ciclo de cultivo, programe visitas periódicas al campo de patólogos y virólogos.

### Remoción de plantas fuera de tipo

- En las parcelas de regeneración, la remoción de plantas fuera de tipo dentro de la accesión se lleva a cabo durante la emergencia de las plantas y durante la floración

puesto que las accesiones pueden haberse contaminado con otros genotipos o accesiones durante la regeneración anterior o con polen durante la polinización.

### Otras recomendaciones

- Evite la contaminación con polen extraño, incluyendo transgenes
- Utilice prácticas de rotación adecuadas a los sistemas de cultivo de la región.

### Cosecha

1. Antes de la cosecha, registre todos los caracteres agronómicos relevantes (ver abajo sección sobre documentación)
2. Inmediatamente antes de la cosecha, registre el número de plantas que han sufrido volcamiento y el número de plantas polinizadas
3. Al momento de la cosecha, la capa negra de la semilla se ha formado y la mayoría de las hojas —especialmente las hojas de las espatas— se han secado. Retire de la planta las mazorcas polinizadas y colóquelas debajo de la planta o en frente de las hileras para inspeccionarlas (fotos 5a, b)
4. Haga una inspección adicional de cada mazorca y retire los granos enfermos, contaminados o anormales antes y después del desgrane
5. Incluya las mazorcas sanas y de buena calidad de grano para que representen el ciclo de regeneración y registre en el libro de campo del proceso de regeneración el número de mazorcas que constituyen la accesión
6. Aplique un insecticida a las mazorcas cosechadas para protegerlas del daño ocasionado por insectos durante el procesamiento de la semilla.

### Número de semillas cosechadas de cada mazorca polinizada

- Tome 10 semillas de 100 plantas progenitoras o 50 semillas de 30 plantas progenitoras, o tome una cantidad igual de semillas del mayor número de plantas progenitoras posible para mantener un buen tamaño efectivo de población ( $N_e$ ) (Crossa et al. 1994).

### Manejo poscosecha

1. Haga un secado previo de las mazorcas cosechadas en una cámara con circulación de aire caliente (no más de 35°C) entre los arrumes de mazorcas para rebajar el contenido de humedad de la semilla a aproximadamente 13-15%. Si el maíz está muy húmedo al momento de la cosecha, mantenga las temperaturas de secado por debajo de 30°C. Si no se cuenta con instalaciones especiales para el secado, ponga las mazorcas a secar en la sombra en un lugar con buena circulación de aire.
2. Desgrane la mazorca dentro de los sobres individuales de semillas y equilibre las muestras de semilla preparadas con granos de todas las mazorcas para que sean representativas del ciclo de regeneración —normalmente se hace tomando el mismo número de granos de cada mazorca. Vuelva a secar los compuestos de semilla de las accesiones con aire fresco. Lo ideal es preparar varios paquetes de semilla regenerada, cada uno con dos semillas de cada mazorca para conservación a largo plazo y para los siguientes ciclos de regeneración (Crossa 1989).
3. Para el segundo secado, coloque las semillas en bolsas de tela o papel, guárdelas en un cuarto fresco y seco (10–15°C de temperatura y 15–20% de humedad relativa) durante

por lo menos 4 semanas, hasta que el contenido de humedad en equilibrio de la semilla esté entre 6 y 8%. Normalmente este proceso se hace utilizando secadoras especiales que combinan las funciones de enfriamiento y deshumidificación. Si no hay disponibilidad de estos equipos, las semillas se deben secar utilizando gel de sílice u otro secante apropiado hasta que alcancen un contenido de humedad de 7-8%.

4. Prepare varios juegos de compuestos balanceados para conservarlos en colección activa, colección base y como duplicados de seguridad. Envíe una muestra de cada accesión a un laboratorio de sanidad de semillas para cumplir con los requisitos de cuarentena.
5. Registre el peso de la prueba de semillas (el peso de 1000 semillas) y el porcentaje de germinación antes del almacenamiento.
6. Ingrese los otros datos de regeneración (ver abajo sección sobre documentación) en el sistema de documentación del banco de germoplasma. Revise los datos de pasaporte originales para verificar si las características de la semilla son las mismas descritas en los registros originales para reemplazar, si es necesario, las semillas viejas con las semillas regeneradas.
7. Almacene las muestras de semilla en sus respectivos sitios de almacenamiento de acuerdo con las normas del banco de germoplasma (colecciones activa, base y duplicados de seguridad).
8. Reemplace las semillas viejas de la colección activa o de la colección base, o de ambas, con nuevas semillas regeneradas para facilitar el manejo y ahorrar espacio. Puede ser necesario mantener una muestra pequeña de la semilla original como material de referencia.

### **Monitoreo de la identidad de la accesión**

- Confirme los datos de caracterización (color y textura del grano) de la accesión de semilla regenerada para confirmar la identidad de la accesión.
- Durante la cosecha, revise el color y la textura de la semilla, los tipos de mazorca y de grano, la madurez y la clasificación de la raza, comparándolos con los registros originales (registrados durante las introducciones originales) de la accesión en la base de datos de pasaporte del banco de germoplasma. El tipo de planta se puede usar para verificar la identidad de la accesión, pero esta característica puede no permanecer estable en los diferentes ciclos de regeneración, especialmente en ambientes diferentes de regeneración/colecta. La clasificación de la raza se puede reconfirmar por medio del fenotipo de la planta, y de las características de la mazorca y del grano.
- Después de desgranar las mazorcas y durante el procesamiento de la semilla, revise el lote de semillas comparándolo con las muestras originales de la accesión de referencia permanente. Rotule el lote (en la parte interior y en la exterior del sobre de semillas y de las bolsas de tela) con el número de identificación de la accesión en el banco de germoplasma y con el número de la parcela de campo donde se regeneró la accesión.

### **Registro de la información durante la regeneración**

Se recomienda llevar un libro de campo del vivero de regeneración en el que se documenten la identificación, la caracterización, el origen de la semilla, el número de plantas polinizadas y cosechadas, y las características agronómicas de la accesión y la introducción. El libro de campo puede contener la siguiente información:



- Nombre y datos georreferenciados o mapa del sitio donde se realizó la regeneración
- Nombre del colaborador
- Número de referencia del campo/la parcela/el vivero/el invernadero
- Número de la accesión: identificación de la población
- Fuente de la semilla
- Datos, ubicación y número de parcela del lugar donde se hizo la regeneración anterior
- Fecha y densidad de siembra
- Distribución espacial de las parcelas en el campo
- Detalles sobre el manejo de campo (riego; fertilización; control de malezas, plagas y enfermedades, y otras prácticas)
- Condiciones ambientales del sitio de regeneración (altitud, horas luz, temperatura, precipitación, tipo de suelo, otras características)
- Emergencia en el campo o casa de malla (número de plantas germinadas)
- Número de plantas establecidas
- Días desde la siembra hasta la formación de las fibras sedosas y la inflorescencia masculina
- Método de polinización controlada utilizado: planta a planta, cruza en cadena, polinización abierta
- Número de plantas polinizadas
- Fecha de cosecha
- Número de plantas (mazorcas polinizadas o mazorcas) cosechadas
- Peso en el campo de las mazorcas cosechadas
- Porcentaje de humedad de la semilla al momento de la cosecha
- Calificación del rendimiento agronómico de la accesión, considerando el peso, la calidad, la uniformidad de la semilla en el campo y la resistencia al volcamiento de la planta
- Las características agronómicas y morfológicas de la planta y la mazorca (longitud, diámetro y ubicación de la mazorca; número de hojas por encima de la hoja de la mazorca; número de hileras de granos; longitud, ancho y grosor del grano; altura de planta; número de días a la formación de las fibras sedosas; número de días a la floración masculina; tasa de pudrición de la mazorca) se registran para los datos de caracterización y se usan para los análisis de variables múltiples requeridos para agrupar las accesiones (Franco *et al.* 2005)
- Aprobación o repetición de la regeneración con base en el tamaño de la población efectiva y/o la posible inconsistencia de la accesión de semilla con los datos de pasaporte y las muestras de semilla de referencia
- Fotografía de las mazorcas y los granos
- Fecha de almacenamiento de la semilla
- Porcentaje de germinación inicial de las semillas almacenadas
- Porcentaje de humedad de la semilla al momento del almacenamiento
- Documentación de cuarentena emitida por la unidad de sanidad de semillas.

### Referencias y lecturas adicionales

- The CIMMYT Maize Program. 2004. Maize diseases: A guide for field identification. 4<sup>a</sup> edición. CIMMYT: Mexico, D.F.
- Crossa J. 1989. Methodologies for estimating the sample size required for genetic conservation of outbreeding crops. *Theoretical Applied Genetics* 77:153–161.
- Crossa J, Taba S, Eberhart SA, Bretting P, Vencovsky R. 1994. Practical considerations for maintaining germplasm in maize. *Theoretical Applied Genetics* 89:89–95.



- FAO/IPGRI. 1994. Normas para Bancos de Genes. FAO e IPGRI, Roma, Italia. Disponible en la dirección [http://www.biodiversityinternational.org/Publications\(pubfile.asp?ID\\_pub=1250](http://www.biodiversityinternational.org/Publications(pubfile.asp?ID_pub=1250).
- Franco J, Crossa J, Taba S, Shands H. 2005. A sampling strategy for conserving genetic diversity when forming core subsets. *Crop Science* 45:1035–1044.
- Hartkamp AD, White JW, Rodríguez Aguilar A, Banzinger M, Srinivasan G, Granados G, Crossa J. 2000. Maize production environments revisited: A GIS-based approach. CIMMYT, Ciudad de México, México.
- ISTA. 2008. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association. ISTA Secretariat, CH-Suiza.
- Lafitte HR. 1994. Identifying production problems in tropical maize: A field guide. CIMMYT, México, D.F.
- Mezzalama ML, Gilchrist L, McNab A. 2001. Seed health: rules and regulations for the safe movement of germplasm. CIMMYT, México D.F.
- Ortega AC. 1987. Insect pests of maize. A guide for field identification. CIMMYT, México D.F.
- Pardey PG, Koo B, Van Dusen E, Skovmand B, Taba S, Wright BD. 2004. CIMMYT genebank in *Saving Seeds: The economics of conserving crop genetic resources ex-situ in the future harvest centers of the CGIAR*, pp. 21–47. CABI Publishing, UK.
- Salhuana W. 1995. Conservation, evaluation and use of maize genetic resources. In: Engels JMM, Rao RR, editors. *Regeneration of Seed Crops and Their Wild Relatives*. ICRISAT, India.
- Wang J, Crossa J, van Ginkel M, Taba S. 2004. Statistical genetics and simulation models in genetic resource conservation and regeneration. *Crop Science* 44:2246–2253.

## Reconocimiento

El contenido científico de esta guía fue revisado por José Crossa del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) en México, Major Goodmann, EE.UU. y Zachary K. Muthamia del Banco Nacional de Germoplasma de Kenia.

## Cómo citar esta publicación

Taba S. and Twumasi-Afryie S. 2008. Guías para la regeneración de germoplasma: maíz. En: Dulloo M.E., Thormann I., Jorge M.A. and Hanson J., editors. *Crop specific regeneration guidelines [CD-ROM]*. CGIAR System-wide Genetic Resource Programme (SGRP), Rome, Italy. 11 pp.



1 Campo de maíz en San José de Minas.  
*Suketoshi Taba*

2 Pedúnculos de la mazorca de maíz  
cubiertos con sobres de glassine.  
*Suketoshi Taba*

3 Bolsa de polinización colocada de forma  
que recoja el polen.  
*Suketoshi Taba*

4 Recolección de polen sacudiendo las  
bolsas de polinización.  
*Suketoshi Taba*

5a, 5b Mazorcas cosechadas dispuestas para  
inspección en el campo.  
*Suketoshi Taba*

