

Aportes de la biotecnología al mejoramiento del maíz

Contributions of biotechnology to the improvement of corn

¹Iris B. Pérez-Almeida y ²Pedro José García-Mendoza

RESUMEN

Existe un alto potencial para la aplicación de la biotecnología en el maíz a partir de los notables avances globales en genética molecular, ingeniería genética y bioinformática, con el fin de desarrollar nuevas variedades e híbridos resistentes a situaciones de estrés biótico y abiótico, y adaptados al cambio climático. El aumento de la productividad, tan fundamental para incrementar la seguridad alimentaria y el crecimiento económico, se puede lograr mediante el uso de estrategias sustentables para minimizar efectos negativos en el medio ambiente, que se apoyen en herramientas biotecnológicas, como alternativa para aliviar la pobreza de una manera sostenible. Asimismo, se pueden producir mejoras sustanciales como la biofortificación del cultivo, mayor calidad del grano y productos finales con valor agregado. El maíz es un modelo genético clásico para la investigación y su mayor producción es un reto que enfrentan los países en desarrollo cuya población crece constantemente a ritmo exponencial, demandando la suplencia adecuada de alimentos. En los últimos años se han producido adelantos notables en el conocimiento de su genoma, por lo cual constantemente se producen avances y modificaciones en sus características productivas. En este artículo se realiza una revisión de las herramientas biotecnológicas de interés agrícola que se han aplicado en el cultivo del maíz.

Palabras clave: biotecnología, fitomejoramiento, bioseguridad, estrés, transgénicos.

ABSTRACT

There is a great potential for the application of biotechnology in corn, in view of the remarkable global advances in molecular genetics, genetic engineering and bioinformatics, in order to develop new varieties and hybrids resistant to biotic and abiotic stress conditions, and adapted to climate change. The increase in productivity, so essential to increase food security and economic growth, can be achieved through the use of sustainable strategies to minimize negative effects on the environment, based on biotechnological tools, as an alternative to alleviate poverty in a sustainable manner. Likewise, substantial improvements can be obtained such as crop biofortification, higher grain quality and final products with added value. Corn is a classic genetic model for research and its increased production is a challenge faced by developing countries whose population is constantly growing at an exponential rate, demanding adequate food supply. In recent years there have been notable

advances in the knowledge of maize genome, leading to frequent advances and changes in its productive characteristics. This article reviews the biotechnological tools of agricultural interest that have been applied to corn crop.

Key words: biotechnology, plant breeding, biosafety, stress, transgenics.

¹Universidad Ecotec - Ecuador

²Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Portuguesa, Venezuela.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.), junto con el trigo y el arroz, es uno de los tres cereales que más se siembra en el mundo. Datos de la FAO lo colocan como el principal cereal cultivado en el ámbito mundial, ya que aun cuando la superficie cosechada con trigo en promedio de los últimos cinco años en todo el mundo superó a la del maíz en alrededor de un 13%, la producción de maíz promedio obtenida en los últimos cinco años en el mundo superó a la media del mismo período registrada en el cultivo del trigo en un 30% (FAO, 2019). Esto se debe a que de estos tres cereales el maíz es quien posee el mayor potencial productivo, con alrededor de 5.590 t/ha, comparado con las 4.557 t/ha del arroz y las 3.370 t/ha del trigo, como promedio mundial (FAO, 2019). La importancia del maíz en el mundo no solo se limita al volumen de producción y al papel que desempeña en la alimentación humana y animal, al ser la materia prima para la fabricación de harinas precocidas, aceites, hojuelas para desayunos y de alimentos balanceados para la alimentación animal, sino también por ser componente importante en la confección de una gran variedad de productos alimenticios e industriales, que van desde la fabricación de edulcorantes, golosinas, bebidas refrescantes y atoles, bebidas alcohólicas, hasta la producción de etanol como combustible de vehículos y componentes importantes de las industrias automovilística, farmacéutica,

cosmetológica, diseño de ropas y calzados, fuente de furfural para la manufactura de fibras de nylon y fenol-formaldehidos plásticos, fabricación de lubricantes del petróleo y purificante de butadine en la producción de caucho sintético, ingrediente en la producción de fertilizantes orgánicos de algas marinas, entre otros (Ranum, et al., 2014). Además, el hecho de tener el más alto potencial para la producción de carbohidratos por unidad de superficie por día, hace que se constituya en un recurso para la seguridad alimentaria de comunidades pobres en regiones tropicales y subtropicales.

La diversidad de los ambientes bajo los cuales es cultivado el maíz es mucho mayor que la de cualquier otro cultivo (Paliwal, 2001). Es una planta C4 con una alta tasa de actividad fotosintética, con el beneficio de la continua respuesta al incremento de la radiación hasta la plena luz con bajos niveles de foto-respiración, siendo una de las especies cultivadas más productivas. La suplencia adecuada de alimentos es un reto que enfrentan los países en desarrollo cuya población crece constantemente a ritmo exponencial. Los países de América Latina, entre ellos Perú, no escapan de esta realidad. Debido a sus múltiples usos, la demanda por su producción aumenta constantemente en todo el mundo. El aumento de la productividad de los cultivos es esencial para incrementar la seguridad alimentaria y el crecimiento económico, utilizando estrategias sustentables para minimizar

efectos negativos en el medio ambiente. Al mismo tiempo los alimentos deben poseer calidad nutricional y resistencia a diversos factores bióticos y abióticos que afectan el rendimiento y la calidad. Un aspecto clave para el crecimiento del sector agrícola es el cambio tecnológico en la producción de alimentos. La biotecnología puede utilizarse para resolver estas dificultades, aunque debe ser vista como parte de una estrategia más global para aliviar la pobreza de una manera sostenible y no como un todo. Este artículo tiene como objetivo, presentar las aplicaciones de la biotecnología en el mejoramiento genético del maíz, los resultados más recientes obtenidos en esta área del conocimiento, así como las perspectivas actuales de su utilización.

DESARROLLO

El maíz pertenece a la familia de las Poáceas (Gramíneas), tribu Maydeas, y es la única especie cultivada de este género. Otras especies del género *Zea*, comúnmente llamadas teosinte y las especies del género *Tripsacum* conocidas como arrocillo o maicillo son formas salvajes parientes de *Zea mays*. El maíz moderno surgió de la domesticación de teosinte (*Zea mays* ssp. *parviglumis*), ocurrida en el suroeste de México hace unos 9000 años (Matsuoka et al. 2002). Su centro de origen está en América (las evidencias indican la región mesoamericana); luego el maíz se

dispersó por el continente americano en numerosas formas que se fueron adaptando localmente tanto a condiciones climáticas templadas como tropicales (Matsuoka et al. 2002).

El hombre comenzó a mejorar sus cultivos de una manera empírica, cruzando las plantas y seleccionando las mejores semillas para sembrarlas en los años siguientes. Esta selección artificial se basaba en el vigor, tamaño, aroma, apariencia y sabor, entre otras características deseadas, y dio origen, al cabo de muchos años, a las variedades de alto rendimiento. De esta forma se transformó al precursor silvestre del maíz, el teosinte, en el importante cultivo comestible que hoy es el maíz. A pesar de los miles de años de domesticación, el maíz ha retenido una gran diversidad alélica (Bracco et al. 2016).

Existen colecciones grandes de germoplasma de maíz, guardadas en el Centro Internacional para el Mejoramiento del Maíz y el Trigo (CIMMYT), el cual posee líneas endocriadas, híbridos, cultivares sintéticos, variedades de libre polinización y razas mejoradas, los cuales representan los recursos de diversidad genética disponibles para su uso en programas de fitomejoramiento y agricultura (CIMMYT, 2017).

Perú posee la mayor diversidad genética de maíz después de México (Serratos, 2009). Se debe a los procesos de selección y cultivo llevados a cabo desde la época

precolombina por los agricultores junto a la presencia de nichos ecológicos en los Andes y regiones aledañas al Perú (Sevilla y Chura, 1999; Salhuana, 2004). La diversidad genética del maíz peruano se distribuye en 52 razas nativas y se encontraron 3931 accesiones en diferentes regiones (Sevilla y Chura 1999). Sin embargo, el importante valor alimenticio y para la salud de la diversidad genética aún no se conoce totalmente debido a que no se ha completado su estudio integral en cuanto a potencial agronómico, bioactivo, nutritivo y molecular (Ranilla et al. 2019).

La caracterización de la diversidad del maíz peruano es crítica para la mayor identificación de variedades nativas superiores con potencial para ser usadas en programas de mejoramiento y especialmente enfocados en el desarrollo de variedades mejoradas, las cuales contengan importantes propiedades para la salud, así como características de valor agronómico para la seguridad alimentaria y con resiliencia al cambio climático (Ranilla et al. 2019).

El mejoramiento convencional de los cultivos se basa en el cruzamiento de plantas que presentan las características deseadas y la posterior selección de los mejores individuos entre las varias generaciones de descendientes. Así, la obtención de una variedad nueva puede llevar entre ocho a diez años. Es por eso que los fitomejoradores están interesados en las nuevas tecnologías que permitan

acelerar y hacer más eficiente este proceso. Es deseable adoptar técnicas rápidas, confiables, y efectivas a través de la biotecnología en programas de fitomejoramiento, para asegurar que la producción sea suficiente para el consumo humano (Pingali y Pandey, 2001). El mejoramiento convencional combinado con genética molecular e ingeniería genética permiten incorporar genes a las variedades modernas de maíz, así como aprovechar mejor la variabilidad genética presente en ellas. La biotecnología ofrece al mejorador de plantas diversas herramientas para llevar a cabo modificaciones en el cultivo.

La biotecnología se ha definido como toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos (ONU, 1992). Es la ciencia que tiene por objetivo el estudio de organismos vivos o sus partes para la obtención de bienes y servicios. Los objetivos de la biotecnología vegetal son diversos e incluyen el mejoramiento de rasgos agronómicos, la obtención de mejores alimentos y el aprovechamiento de las plantas como bio-reactores o fábricas de moléculas.

En el sentido amplio, biotecnología comprende un amplio rango de tecnologías que usan organismos vivos o sustancias producidas por éstos, o modifican productos biológicos o mejoran plantas, animales o

microorganismos para usos específicos. Sus aplicaciones modernas en el fitomejoramiento pueden dividirse en dos categorías principales: genética molecular e ingeniería genética. La genética molecular se enfoca en el uso de marcadores moleculares y la generación de huellas genéticas para identificar la presencia de genes específicos en un organismo gobernando características de interés. La ingeniería genética involucra la inserción de genes nativos (cis-) o foráneos (trans-) en un organismo hospedero con el fin de aumentar su valor o utilidad (Hoisington, 2000). Los productos de la ingeniería genética se denominan organismos genéticamente modificados (OGM).

Las aplicaciones biotecnológicas que se han implementado en el cultivo de maíz incluyen:

Cultivo de tejidos

La capacidad de regenerar plantas a partir de callos y células es esencial para establecer un sistema de cultivo de tejidos vegetales. El cultivo de tejidos es un proceso a través del cual se propagan o reproducen asexualmente plantas enteras a partir de piezas mínimas de tejido vegetal. Es fundamental que el cultivo al cual se le aplica ingeniería genética pueda regenerarse de esta manera., esto es, la existencia de un sistema simple y confiable de regeneración de plantas es prerequisite para establecer un sistema de transformación eficiente.

Los investigadores Green y Phillips (1974) utilizando el medio de Murashige-Skoog (1962), desarrollaron embriones capaces de regenerar plántulas a partir de callos de las líneas endocriadas A188, A619, A632, B9A, y W64A, siendo A188 la de mayor porcentaje de diferenciación. A partir de este hallazgo se realizaron numerosos ensayos, añadiendo hormonas principalmente auxinas. Sheridan (1982) creó cultivos de células en suspensión a partir del linaje BMS (Black Mexican Sweet), de rápido crecimiento y fáciles de mantener, pero las cuales no regeneraban plántulas. Sin embargo, fueron útiles para experimentos de transformación de plantas.

Subsiguientes experiencias añadiendo aminoácidos como L-prolina a medio N6 indujo la iniciación de callos embriogénicos en embriones de la línea A188 (Armstrong et al. 1985); mientras que la incorporación de nitrato de plata al medio de cultivo favoreció la frecuencia de formación de callos; Vain, Flament y Soudain 1989; Songstad, Armstrong y Peterson 1991).

Hasta ahora las técnicas de cultivo de tejidos y transformación en maíz involucran el uso de embriones cigóticos inmaduros como explante para la regeneración (Danson et al. 2006; El-Itriby et al. 2003). Sin embargo, los embriones inmaduros están disponibles según la estación y tienen una duración estrictamente limitada en cuanto a su disponibilidad para cultivo de tejidos de

aproximadamente 14 a 19 días después de la polinización (DAP) (Oduor et al. 2006). Esto impone tediosas rutinas a las actividades de cultivo de tejidos con marcos específicos de tiempo y continua siembra para mantener la disponibilidad de embriones inmaduros. En contraste, embriones maduros se encuentran disponibles durante todo el año en grandes cantidades. Por otra parte, a pesar de unos pocos informes de la recalcitrancia de líneas tropicales y embriones maduros de maíz al cultivo de tejidos (Bohorova et al. 1995; Hodges et al. 1986), otros autores han logrado la regeneración exitosa de líneas de maíz y otros cereales a partir de embriones maduros (Akula et al. 1999; Green y Philips 1974).

Green y Phillips (1974) fueron los primeros en informar la inducción de callos a partir de embriones maduros de maíz. No obstante, Wang (1987) fue el primero en lograr la regeneración de plantas con este explante utilizando dos líneas endocriadas, B73 y Mo17, aunque la frecuencia era dependiente del genotipo y apenas del 4 – 5 %. Huang y Wei (2004) lograron incrementar esta frecuencia entre 19,85 a 32,4 %. Propusieron un sistema eficiente de regeneración a partir de explantes de semillas maduras divididas de dos híbridos y dos líneas endocriadas.

Los embriones inmaduros han sido los explantes más ampliamente utilizados para la iniciación de cultivo de tejidos

regenerables (Armstrong y Green, 1985; Phillips et al. 1988). A partir de las superficies del escutelo de embriones inmaduros se pueden iniciar dos tipos de callos: Tipo I y Tipo II. Tipo I es compacto y organogénico y se obtiene fácilmente a partir de embriones inmaduros. Por otro lado, Tipo II es friable y embriogénico, y se inicia con menor frecuencia que el tipo I (Carvalho et al. 1997). Existen pocos genotipos tropicales con la capacidad de iniciar callos tipo II (Oduor et al. 2006; Carvalho et al. 1997). Callos tipo II son más regenerables que tipo I (Armstrong y Green, 1985). Aunque se ha logrado inducir y regenerar varios tipos de explantes en maíz, predomina el embrión cigótico inmaduro como explante para la transformación de maíz debido a la operación simple de inoculación posterior y fácil inducción de callos (Binott et al. 2008).

El cultivo de tejidos y el establecimiento de sistemas de cultivo celular son vitales para muchas áreas de ciencias básicas y fitomejoramiento como selección de mutantes y transformación de plantas (Phillips, 2004). No obstante, está condicionada por el genotipo y condiciones de cultivo *in vitro*, por lo cual no todas las especies o variedades pueden utilizarse (Huang y Wei 2004). La evaluación de genotipos para la regeneración *in vitro* continúa siendo una tarea importante en la investigación, pues como se ha afirmado, es necesario identificar genotipos que puedan responder a la inducción de callos

embriogénicos y a la regeneración de plantas, como paso necesario para la transformación genética exitosa. Recientemente Ovchinnikova et al. (2018) demostraron que mesocotilos de maíz pueden servir como explantes para transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens*.

El potencial de los doble-haploides (DH) en el mejoramiento del maíz radica en que, a través de su generación a partir del cultivo de anteras, varias combinaciones de genes pueden fijarse en estado homocigota en corto tiempo para producir líneas. El cultivo de anteras puede utilizarse para producir líneas de maíz endocriadas, de las cuales aquellas con características de alta fertilidad y otros caracteres favorables agronómicamente pueden utilizarse directamente en la explotación de la heterosis, a través de la producción de híbridos que el mercado requiere. Pese a ello, la aplicación exitosa de la técnica en maíz se ha visto obstaculizada por la alta dependencia del genotipo para la respuesta y la baja frecuencia de doblamiento espontáneo de los cromosomas en plantas originadas en la microspora. Desde que Kuo et al. (1978) lograron obtener las primeras plantas androgénicas en maíz se realizan estudios intensivos para mejorar las condiciones de cultivo, procurando obtener mejor respuesta a la técnica y a detectar genotipos de alta respuesta. El maíz es un cultivo recalcitrante ya que pocos genotipos responden al proceso de

inducción de callos (Obert y Barnabas, 2004). A pesar de ello, las estrategias y la tecnología han ido evolucionando de manera acelerada, para lograr que esta técnica pueda ser utilizada en los programas de mejoramiento genético del cultivo de maíz. En este sentido, refieren que las grandes compañías semilleras multinacionales actualmente usan líneas DH en la mayoría de sus actividades mejoramiento. Según informes, en 2011, Pioneer generó una cantidad de líneas DH que supera el número total de líneas endogámicas generadas en los primeros 80 años de sus actividades fitotécnicas. Este dato es representativo de la industria semillera multinacional en conjunto. Al respecto, los investigadores señalan que ahora el foco de atención es la selección asistida por marcadores (SAM) y el fenotipado de alto rendimiento de las recién generadas líneas DH.

Marcadores moleculares

El conocimiento profundo de la arquitectura genética de las poblaciones de maíz es útil para poder aprovechar el germoplasma con varios propósitos en el fitomejoramiento. Thirunavukkarasu et al. (2013) genotiparon un panel de líneas subtropicales de maíz en la India, con el fin de mapear por asociación varios genes agronómicos importantes, descubriendo disimilitud entre genotipos la cual provee de amplias oportunidades para utilizar el potencial heterótico de líneas élites en el mejoramiento.

El análisis genético usando marcadores moleculares se utiliza en fitomejoramiento y también en conservación de germoplasma (Belaj et al. 2012), mapeo por asociación (Li et al. 2011), estructura poblacional (Van Inghelandt et al. 2010), relaciones genéticas entre poblaciones (Bracco et al. 2009; 2016), asociación entre distancia genética y heterosis o capacidad combinación específica, adaptación e información genealógica (Legesse et al. 2007, 2008), desequilibrio de ligamiento (Stich et al. 2006), e identificación de grupos heteróticos (Xia et al. 2004, 2005).

Para entender la organización genética del maíz y las relaciones entre sus razas se necesitan estudios con marcadores genéticos. Los marcadores morfológicos de la mazorca de maíz fueron estudiados por McClintock et al. (1981), pero los genes estaban ligados y sujetos a selección convergente. Posteriormente se utilizaron marcadores isoenzimáticos enfocados en países o regiones (Doebly et al. 1988; Sánchez G. et al. 2006). A nivel molecular, Matsuoka et al. (2002) examinaron el origen del maíz utilizando microsátélites o repeticiones de secuencia simple (SSR) en un amplio set de 193 razas de las Américas; mientras que Vigouroux et al. (2008) examinaron aproximadamente 350 razas nativas.

La evaluación de la diversidad genética dentro y entre poblaciones de plantas se realiza rutinariamente utilizando diferentes marcadores morfológicos,

bioquímicos y moleculares. Los marcadores basados en el ADN son preferidos a los morfológicos y bioquímicos debido a que no están afectados por factores ambientales o por el estado de desarrollo de la planta; no están limitados en número y también son reproducibles. En consecuencia, los marcadores basados en ADN han sido una herramienta indispensable en la caracterización de recursos genéticos y proveyendo información detallada sobre los recursos genéticos a los mejoradores para asistirlos en la selección de progenitores (Collard y Mackill, 2008). Varios marcadores como simple secuencia repetida (SSR) se han usado extensamente en maíz para estudiar la correlación entre distancia genética y rendimiento de híbridos, heterosis, capacidad combinatoria y asignar líneas endocriadas dentro de grupos heteróticos (Warburton et al. 2008).

Entre los marcadores basados en PCR, los ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) ofrecen ventajas de los RAPD (Random Amplified Polimorfismo) (no es necesario conocer la secuencia genética) y los marcadores SSR. La técnica de ISSR genera marcadores dominantes multiloci altamente polimórficos (Reddy et al. 2002; Oliveira et al. 2010).

La técnica se considera más simple y rápida que los RAPD, pero con mayor rigurosidad. Lenka et al. (2015) utilizaron ISSR para evaluar la diversidad genética de líneas endocriadas de maíz a ser combinadas para la generación de

híbridos de maíz. Bracco et al. (2016) utilizaron variaciones en secuencias de SSR y *Adh2* en maíces criollos suramericanos para analizar su estructura poblacional y diversidad, para relacionarla con modelos de distribución geográfica-climática. Asimismo, Ko et al. (2016) caracterizaron maíces dulces utilizaron SSR y SSAP (polimorfismos amplificados de secuencia específica) comparando su eficiencia en el estudio de diversidad y relaciones genéticas no encontrando diferencias significativas entre los marcadores. Lanes et al. (2014) utilizaron 81 loci microsatélites en 90 líneas endocriadas de maíz para comparar su estructura poblacional y la diversidad genética de estos maíces tropicales.

Con los avances en la tecnología de marcadores, marcadores basados en polimorfismo de un simple nucleótido (SNP) se han constituido en los preferidos debido a su bajo costo por punto de datos, su abundancia genómica, especificidad por locus, codominancia, potencial para análisis de alto rendimiento y menor tasa de errores de genotipaje (Semagn et al. 2012). Se han comparado estudios con uso de SSR o SNP revelando que SSR con densidad moderada parecen ser más efectivos para análisis de estructura poblacional y diversidad en maíz, sin embargo, debido a que aumenta el número de SNPs disponibles los resultados obtenidos son comparables (Jones et al. 2007; Mengesha et al. 2017). Recientemente, Boakyewaa et al. (2019) evaluaron la diversidad genética y la

estructura poblacional de líneas de maíz resistentes a *Striga* o tolerantes a la sequía utilizando SNP.

Los polimorfismos en el ADN de dos líneas diferenciadas de maíz se estima que ocurren cada 44 pares de bases en promedio (Gore et al. 2009), lo cual representa una frecuencia de SNP mayor que aquella entre los humanos y los chimpancés. Millones de polimorfismos de nucleótidos simples e inserciones o deleciones (indels), son críticos para entender la arquitectura de las características o rasgos del cultivo, y se han identificado utilizando líneas endocriadas diferenciadas (Gore et al. 2009).

Marcadores con polimorfismo de un nucleótido (SNP) de alta calidad distribuidos en el genoma del maíz se han utilizado para caracterizar líneas tropicales (Thirunavukkarasu et al. 2013; Boakyewaa et al. 2019), con el fin de explotar el potencial heterótico de estos materiales en base a la disimilitud encontrada.

La genómica funcional es una ciencia emergente en crecimiento cuyo objetivo es entender la función de todos los genes de un organismo. Los avances recientes en genómica revolucionan nuestro entendimiento de los mecanismos moleculares de las enfermedades, incluyendo el complejo de interacciones genéticas y ambientales. El maíz fue uno de los primeros cultivos con un mapa molecular completo desarrollado (Helentjaris et al. 1986).

Luego se produjeron otros mapas formando un consenso con el primero (Gardiner et al. 1993). Se encontró un elevado nivel de polimorfismo aún entre líneas altamente relacionadas, siendo que con el mapa consenso pueden identificarse rápidamente posibles marcadores para usar en regiones de interés saturadas o para desarrollar sistemas alternativos de marcadores. La mayor parte de datos moleculares pertenecen al sector privado, sin embargo, el sector público ha desarrollado mapas de genes simples y QTL detallados en características de importancia para los países en desarrollo.

El maíz es un modelo genético clásico para la investigación. Tiene un sinnúmero de características favorables para constituirse en un modelo experimental de cultivo vegetal: a) es un cultivo multipropósito cultivado en todo el mundo, lo cual atrae fondos de financiamiento de sectores público y privado; b) tiene tamaño moderado de genoma ~2400 Mb de ADN por núcleo haploide en la línea endocriada B73, lo cual es seis veces mayor que el genoma del arroz y seis veces menor que el del trigo (aunque se considera que una gran proporción de este genoma está formado por elementos repetidos); tiene aproximadamente < 59.000 (Messing et al. 2004) y 42 - 56.000 genes (Haberer et al. 2005); c) sistema reproductivo de polinización cruzada con tolerancia a la endocría; d) existencia de múltiples productos de mejoramiento (líneas

endocriadas, híbridos, cultivares sintéticos, variedades de libre polinización, variedades ancestrales mejoradas); y e) amplia adaptabilidad incluyendo buenas fuentes de resistencia a estreses ambientales (Xu et al. 2009).

Transformación genética

El primer método exitosamente utilizado para transformar células de maíz fue la toma directa de ADN desnudo dentro de protoplastos de la línea celular BMS (Black Mexican Sweet), donde se demostró el evento estable de transgénesis en los callos formados posteriormente (Fromm et al. 1986); sin embargo, aún no existía un sistema eficiente para la regeneración de plantas. Dos años más tarde se informó la primera planta transgénica de maíz (Rhodes et al. 1988a).

No mucho después también fueron publicados los primeros artículos de transformación exitosa de maíz usando protoplastos bombardeados con micropartículas (o transformación biobalística) la cual demostró la regeneración de transformantes de maíz altamente fértiles a partir de suspensiones celulares o callos como tejido celular objetivo y usando como marcadores seleccionables la resistencia a herbicidas (bialafós – BAR; acetolactato – ALS) o antibióticos (Higromicina fosfotransferasa – HPT) (Fromm et al. 1990; Gordon-Kamm et al. 1990; Walters et al., 1992; Vain et al. 1993). Los eventos de transformación por biobalística

obtuvieron callos embriogénicos con mayor fertilidad al comparar con los de transformación de protoplastos (Que et al. 2014).

La transformación de plantas mediada por *Agrobacterium* es el método preferido para hacer ingeniería genética porque se pueden transferir fragmentos de ADN de tamaño relativamente grande (30 – 150 kb) al ADN de plantas generando eventos con bajo número de copias del transgen (Gelvin 2003; 2009; Komari et al. 2004).

La producción de maíz transgénico ha tenido tremendo progreso desde el primer reporte usando el laborioso y largo método de transformación utilizando protoplastos propuesto por Rhodes et al. (1988a); el desarrollo de la transformación por bombardeo de micropartículas o biolística (Fromm et al. 1990; Gordon-Kamm et al. 1990) hasta el desarrollo de la transformación mediada por *Agrobacterium* en maíz (Ishida et al. 1996). Con el desarrollo del sistema del plásmido superbinario pSB1 se amplió el espectro de plantas transformables con *A. tumefaciens* (Komari et al. 2006) y es el sistema utilizado para transformar maíz (Cho et al. 2014; Zhi et al. 2015). El uso de vectores introducidos mediante *Agrobacterium* es una tecnología para la generación de materiales transgénicos más simple y confiable. Sin embargo, debido al tamaño grande del plásmido pSB1 (aproximadamente 37 kb) y el paso de co-integración requerido para introducirlo en el vector ADN-T se complica la construcción de los vectores y

la confirmación estructural del plásmido. Por estas razones recientemente Anand et al. (2018) propusieron un sistema de vector ternario mejorado para la transformación del cultivo utilizando los plásmidos pVIR accesorios.

En los últimos años, los avances en las tecnologías de ingeniería genética han hecho posible hacer modificaciones en el cultivo e insertar transgenes en sitios cromosomales específicos del genoma del maíz (Shukla et al. 2009; Gao et al. 2010; Liang et al. 2014). Desde el lanzamiento al mercado de los primeros productos transgénicos con Bt a mediados de los 90, el maíz ha sido el principal objeto de las innovaciones biotecnológicas. Actualmente hay más caracteres biotecnológicos disponibles en el mercado para el maíz que para cualquier otro cultivo (Que et al. 2014).

La generación de plantas transgénicas es un paso crucial para el desarrollo de nuevos productos y características biotecnológicas. En estos esquemas lo deseable es tener un sistema de transformación que produzca un gran número de eventos de alta calidad en un trasfondo genético elite.

Más recientemente inició una nueva era del mejoramiento genético por medio de las técnicas de edición génica que generan cambios precisos y controlados (edición) de las secuencias génicas a partir de un sistema de enzimas de restricción. Este sistema se espera que aporte una nueva revolución biotecnológica y contribuciones sustanciales al desarrollo

de cultivos y alimentos. CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, o repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas, por su traducción del inglés), funciona naturalmente como un sistema inmune adaptativo microbiano para protegerse de ADN exógeno.

Fue descrito por primera vez en 1987 (Ishino et al. 1987), y se ha descubierto que puede facilitar la manipulación de genomas eucariotas, obteniendo cambios en sitios específicos del ADN para generar organismos con características deseadas (Ran et al. 2013).

Es sólo cuestión de tiempo para que la aplicación de tecnologías como TALEN y CRISPR-Cas9 permita entender mucho más acerca del genoma del maíz, así como el desarrollo de caracteres comerciales, los cuales progresarán rápidamente en los años venideros.

APORTE CIENTÍFICO

Existe alto potencial para aplicar las herramientas de la biotecnología en el mejoramiento del maíz. Un factor importante es su alta biodiversidad la cual aún no está suficientemente investigada y documentada. Se puede realizar la selección de características deseables mediante marcadores moleculares, búsqueda de materiales con adaptación a estrés biótico y abiótico. Las nuevas técnicas de mejoramiento basadas en biotecnología también permiten responder más eficientemente a los

requerimientos de los productores y las preferencias siempre cambiantes de los consumidores. Se espera que con ayuda de las herramientas biotecnológicas se produzcan mejoras sustanciales como la biofortificación del cultivo (incremento del valor nutricional) y la resistencia a plagas, enfermedades y herbicidas, para disminuir el empleo de químicos en su control, favoreciendo el medio ambiente, entre otros. En el caso de la industria alimentaria, la biotecnología ha intensificado su contribución a partir de los notables avances en genética molecular, ingeniería genética y bioinformática.

CONCLUSIÓN

El cultivo del maíz es importante para alimentación, así como otros usos, como producción de biomasa. Estudios de su diversidad a nivel genético, molecular y funcional revelan que el germoplasma tropical, variedades ancestrales y parientes silvestres poseen un espectro significativamente amplio de variabilidad genética. Se procura el desarrollo de resistencia a plagas y aumento de la calidad del grano, utilizando la ingeniería genética. A través de la selección asistida por marcadores se han desarrollado materiales con mayor rendimiento y resistentes a estrés biótico y abiótico. La comunidad científica posee bases de datos genéticas y herramientas bioinformáticas que se enriquecen continuamente con los avances en el

conocimiento del genoma del maíz. Este cultivo multipropósito posee una gran importancia en las regiones productivas, y continuará jugando un papel fundamental en su desarrollo, moldeando el futuro de sistemas de producción y mejoramiento de cultivos. Los avances en estudios de genómica del maíz, su mejoramiento y producción tendrán un impacto significativo en una gran proporción de la población humana, por lo cual su conocimiento es de gran importancia. En este trabajo se han revisado las que se consideran más resaltantes en la actualidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akula, C., Akula, A., y Henry, R. (1999). Improved regeneration efficiency from mature embryos of barley cultivars. *Biol. Plant.* 42(4), 505-513.
- Anand, A., Bass, S. H., Wu, E., Wang, N., McBride, K. E., Annaluru, N., ... Jones, T. J. (2018). An improved ternary vector system for *Agrobacterium*-mediated rapid maize transformation. *Plant Mol. Biol.* 97(1-2), 187-200. doi:10.1007/s11103-018-0732-y
- Armstrong, C. L. y Green, C. E. 1985. Establishment and maintenance of friable embryogenic maize callus and the involvement of L-proline. *Planta* 164(2), 207-214.
- Belaj, A., Dominguez-García, M. C., Atienza, S. G., Urdíroz, N. M., ... Rio, C. (2012). Developing a core collection of olive (*Olea europaea* L.) based on molecular markers (DArTs, SSRs, SNPs) and agronomic traits. *Tree Genet. Genome* 8(2), 365-378.
- Binott, J., Songa, J. M., Ininda, J., Njagi, E. M., y Machuka. J. (2008). Plant regeneration from immature zygotic embryos of Kenyan maize inbred lines and their respective single cross hybrids through somatic embryogenesis. *Afr. J. Biotechnol.* 7(8), 981-987.
- Boakyewaa, A. G., Badu-Apraku, B., Akromah, R., Garcia-Oliveira, A. L., Awuku, F. J., y Gedil, M. (2019). Genetic diversity and population structure of early-maturing tropical maize inbred lines using SNP markers. *PLoS ONE* 14(4), e0214810. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214810>
- Bohorova, N. E., Luna, B., Briton, R. M., Huerta, L. D., y Hoisington, D. A. (1995). Regeneration potential of tropical, subtropical, mid-altitude, and highland maize inbreds. *Maydica* 40(3), 275-281.
- Bracco, M., Lia, V. V., Gottlieb, A. M., Camara, H. J., y Poggio, L. (2009). Genetic diversity in maize landraces from indigenous settlements of Northeastern Argentina. *Genetica* 135(1), 39-49. doi: 10.1007/s10709-008-9252-z.
- Bracco, M., Cascales, J., Hernández, J. C., ... Lia, V. V.

- maize diversity in lowland South America: genetic structure and geographic distribution models. *BMC Plant Biol* 16(1), 186, doi:10.1186/s12870-016-0874-5
- Carvalho, N., Bohorova, P. N., Bordallo, L. L., Abreu, F. H., ... Paiva, E. (1997). Type II callus production and plant regeneration in tropical maize genotypes. *Plant Cell Rep.* 17(1), 73-76, doi: 10.1007/s002990050355.
- Cho, M-J., Wu, E., Kwan, J., Yu, M., Banh, J., Linn, W., Anand A, ... Zhao, Z-Y. (2014). *Agrobacterium*-mediated high-frequency transformation of an elite commercial maize (*Zea mays* L.) inbred line. *Plant Cell Rep.* 33(10), 1767-1777, doi: 10.1007/s00299-014-1656-x.
- Collard, B. C. Y., y Mackill, D.J. (2008). Marker-assisted selection: An approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.*; 363(1491), 557-72.
- Danson, J. W., Lagat, M., y Mbogori, M. (2006). Screening tropical maize lines for the production and regeneration of friable and embryogenic Type II callus. *Afr. J. Biotechnol.* 5(23), 2367-2370.
- Doebley, J., Wendel, J. D., Smith, J.S.C., Stuber, C., y Goodman, M.M. (1988). The origin of cornbelt maize: The isozyme evidence. *Econ. Bot.* 42(1), 120-13,. doi: 10.1007/BF02859042
- El-Itriby, H. A., Assem, S. K., Hussein, E. H. A., Abdel-Galil, F. M. y Madkour, M. A. (2003). Regeneration and transformation of Egyptian maize inbred lines via immature embryo culture and a biolistic particle delivery system. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* 39(5), 524-531.
- Fromm, M. E., Taylor, L. P., y Walbot, V. (1986). Stable transformation of maize after gene transfer by electroporation. *Nature* 319(6056), 791-793, doi:10.1038/319791a0
- Fromm, M., Morrish, F., Armstrong, C., Williams, R., Thomas, J., y Klein, T. (1990). Inheritance and expression of chimeric genes in the progeny of transgenic maize plants. *BioTechnology (N Y)* 8(9), 833-839, doi: 10.1038/nbt0990-833
- Gao, H., Smith, J., Yang, M., Jones, S., Djukanovic, V., Nicholson, M. G., et al. (2010). Heritable targeted mutagenesis in maize using a designed endonuclease. *Plant J.* 61, 176-187, doi: 10.1111/j.1365-313X.2009.04041.x
- Gardiner, J., Melia-Hancock, S., Hoisington, D. A., Chao, S. y Coe, E.H. (1993). Development of a core RFLP map in maize using an immortalized-F₂ population. *Genetics* 134(3), 917-930.
- Gelvin, S. B. (2003). *Agrobacterium*-mediated plant transformation: the

- Komari, T., Ishida, Y. y Y. Hiei. (2004). Plant transformation technology: *Agrobacterium*-mediated transformation. En: Cristou P., Klee H. (eds.). Handbook of plant biotechnology. Chichester: Wiley.
- Kuo, C., Sun, A., Wang, Y., Gui, Y., Gu, S., y S. Miao. (1978). Studies on induction of pollen plants and androgenesis in maize. En: Cristou P y H. Klee. (eds) Handbook of Plant Biotechnology. Chichester: Wiley.
- Lanes, E. C., Viana, J. M., Paes, G. P., Paula, M. F., Maia, C., Caixeta, E. T., Miranda, G. V. (2014). Population structure and genetic diversity of maize inbreds derived from tropical hybrids. *Genet Mol Res.* 13(3):7365-76, doi: 10.4238/2014.
- Legesse, B. W., Myburg, A. A., Pixley, K. V. y Botha, A. M. (2007). Genetic diversity of African maize inbred lines revealed by SSR markers. *Hereditas* 144(1), 10-17.
- Legesse, B. W., Myburg, A. A., Pixley, K. V., Myburg, A. A., Twumasi-Afriyie, S., y Botha, A. M. (2008). Relationship between hybrid performance and AFLP based genetic distance in highland maize inbred lines. *Euphytica* 162(3), 313-323, doi: 10.1007/s10681-007-9503-6
- Lenka, D., Tripathy, S. K., Kumar, R., Behera, M., y Ranjan, R. (2015). Assessment of genetic diversity in quality protein maize (QPM) inbreds using ISSR markers. *J Environ Biol.* 36(4), 985-92.
- Li MJ, Wang P, Liu X, Lim EL, Wang Z, Yeager M, Wang J. (2011). GWASdb: a database for human genetic variants identified by genome-wide association studies. *Nucleic Acids Res.* 40:D1047-D1050.
- Liang, Z., Zhang, K., Chen, K., y Gao, C. (2014). Targeted mutagenesis in *Zea mays* using TALENs and the CRISPR/Cas system. *J. Genet. Genomics* 41(2), 63–68. doi: 10.1016/j.jgg.2013.12.001
- Lowe, K., La Rota, M., Hoerster, G., Hastings, C., Wang, N., Chamberlin, M., ...Gordon-Kamm, W. (2018). Rapid genotype “independent” *Zea mays* L. (maize) transformation via direct somatic embryogenesis. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* 54(3), 240-252, <https://doi.org/10.1007/s11627-018-9905-2>
- Matsuoka, Y., Vigouroux, Y., Goodman, M.M., Sanchez G., J., Buckler, E. y Doebley J. (2002). A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 99(9), 6080-6084.
- McClintock, B, Kato, T.A., Blumenschein, A. (1981). Chromosome constitution of races of maize. Its significance in the interpretation of relationships

- biology behind the “gene-jockeying” tool. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67(1),16-37.
- Gelvin, S. B. (2009). *Agrobacterium* in the genomics age. *Plant Physiol.* 150(4), 1665-1676, doi: 10.1104/pp.109.139873
- Gordon-Kamm, W. J., Spencer, T. M., Mangano, M. L., Adams, T. R., Daines, R. J., Start, W. G., ... Lemaux, P. G. (1990). Transformation of maize cells and regeneration of fertile transgenic plants. *Plant Cell* 2(7), 603–618, doi: 10.1105/tpc.2.7.603
- Gore, M. A., Chia, J-M., Elshire, R. J., Sun, Q. y Ersoz, E. S. (2009). A first-generation haplotype map of maize. *Science* 326(5956),1115-1117.
- Green, C., y Phillips, R. (1974). Plant regeneration from tissue culture of maize. *Crop Sci.* 15(3), 417-421, doi:10.2135/cropsci1975.0011183X001500030040x
- Haberer, G., Young, S., Bharti, A. K., Gundlach, H., Raymond, C., Fuks, G., ... Messing, J. (2005). Structure and architecture of the maize genome. *Plant Physiology.*139(4):1612–1624.
- Helentjaris, T., Weber, T. y Wright, S. (1986). Use of monosomics to map cloned DNA fragments in maize. *PNAS USA* 83(16),6035-6039.
- Hodges, T. K., Kamo, K. K., Imbrie, C. W., y Becwar, M. R. (1986). Genotype specificity of somatic embryogenesis and regeneration in maize. *Biotechnology* 4(3), 219-224. doi:10.1038/nbt0386-219
- Huang, X. Q., y Wei, Z. M. (2004). High-frequency plant regeneration through callus initiation from mature embryos of maize (*Zea mays* L.). *Plant Cell Rep.* 22(11), 793–800. doi:10.1007/s00299-003-07489.
- Ishino, Y., Shinagawa, H., Makino, K., Amemura, M., y Nakata, A. (1987). Nucleotide sequence of the iap gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product. *Journal of Bacteriology* 169(12), 5429–5433.
- Jones, E. S., Sullivan, H., Bhatramakki, D., y Smith, J. S. C. (2007). A comparison of simple sequence repeat and single nucleotide polymorphism marker technologies for the genotypic analysis of maize (*Zea mays* L.). *Theor Appl Genet* 115(3), 361–71, doi.org/10.1007/s00122-007-05709
- Ko, W. R., Sa, K. J., Roy, N. S., Choi, H. J. y Lee, J. K. (2016). Analysis of the genetic diversity of super sweet corn inbred lines using SSR and SSAP markers. *Genet Mol Res.* 15(1), doi: 10.4238/gmr.15017392.
- Komari, T., Takakura, Y., Ueki, J., Kato, N., Ishida, Y., y Hiei, Y. (2006). Binary vectors and super-binary vectors. En: Wang K, editor. *Agrobacterium* protocols. Totowa: Humana Press.

- between races and varieties in the Americas. Colegio de Posgraduados, Escuela Nacional de Agricultura, Chapingo: Mexico.
- Mengesha, W. A., Menkir, A., Unakchukwu, N., Meseke, S., Farinola, A., Girma G, y Gedil, M. (2017). Genetic diversity of tropical maize inbred lines combining resistance to *Striga hermonthica* with drought tolerance using SNP markers. *Plant Breed.* 136(3), 338–43.
- Messing, J., Bharti, A. K., Karlowski, W. M., Gundlach, H., Kim, H. R., Yu, Y. ... Wing, R. A. (2004). Sequence composition and genome organization of maize. *PNAS USA* 101(40), 14349–14354.
- Obert, B. y B. Barnabas. (2004). Colchicine induced embryogenesis in maize. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 77(3), 282-285.
- Odour, R. O., Njagi, E. N. M., Ndung's, S., y Machuka J. S. (2006). *In vitro* regeneration of dry and Kenyan maize genotypes through somatic embryogenesis. *Int. J. Bot.* 2(2), 146-151.
- Oliveira, E.C., Amaral Jr., A. T., Gonçalves, L. S. A., Pena, G. F., Freitas Jr., S. P., Ribeiro, R. M. y Pereira, M. G. (2010). Optimizing the efficiency of the touchdown technique for detecting inter-simple sequence repeat markers in corn (*Zea mays*). *Genet. Mol. Res.* 9 (2), 835-842 doi:10.4238/vol9-2gmr767
- Ovchinnikova, V. N., Sotchenko, V. S., Sotchenko, Y. V., Varlamova, N. V., Rodionova M. A. y Kharchenko, P. N. (2018). Susceptibility of maize mesocotyl culture to *Agrobacterium* transformation and its *in vitro* regeneration. *Appl Biochem Microbiol* 54(8), 808-815, doi.org/10.1134/S0003683818080057
- Phillips, G. C. (2004). Invited review: *in vitro* morphogenesis in plants recent advances. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 40(4), 342–345, doi:10.1079/VP2004555.
- Pingali, P. L., y Pandey, S. (2001). Meeting world maize needs: Technological opportunities and priorities for the public sector. In: CIMMYT 1999-2000 World Maize Facts and Trends, Mexico: CIMMYT.
- Que, Q., Elumalai, S., Li, X., Zhong, H., Nalapalli, S., Schweiner, M., ... Chilton M. D. (2014). Maize transformation technology development for commercial event generation *Frontiers in Plant Science* 5: 379, doi.org/10.3389/fpls.2014.00379
- Ran, F. A., Hsu, P. D., Wright, J., Agarwala, V., Scott, D. A. y Zhan, F. (2013). Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system. *Nature Protocols* 8(11), 2281-2308. doi.org/10.1038/nprot.2013.143
- Ranilla, L.G., Huamán-Alvino, C., Flores-Báez, O. Aquino-Méndez, E. M., Chirinos, R., Campos, D. ...

- Shetty, K. (2019). Evaluation of phenolic antioxidant-linked in vitro bioactivity of Peruvian corn (*Zea mays* L.) diversity targeting for potential management of hyperglycemia and obesity. *J. Food Sci. Technol.* 56(6), 2909–2924. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03748-z>
- Reddy, M. P., Sarla, N., y Siddiq, E.A. (2002). Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica* 128:9-17.
- Rhodes, C. A., Pierce, D. A., Mettler, I. J., Mascarenhas, D., y Detmer, J. J. (1988a). Genetically transformed maize plants from protoplasts. *Science* 240(4849), 204–207, doi: 10.1126/science.2832947
- Rhodes, C. A., Lowe, K. S., y Ruby, K. L. (1988b). Plant regeneration from protoplasts isolated from embryogenic maize cell cultures. *Biotechnology* 6, 56–60, doi: 10.1038/nbt0188-56
- Sánchez G., J. J., Goodman, M. M., Bird, R. M. y Stuber, C. W. (2006). Isozyme and morphological variation in maize of five Andean countries. *Maydica* 51(1), 25-42.
- Semagn, K., Magorokosho, C., Vivek, B. S., Makumbi, D., Beyene, Y., Mugo, S, ... Warburton, M. L. (2012). Molecular characterization of diverse CIMMYT maize inbred lines from eastern and southern Africa using single nucleotide polymorphic markers. *BMC Genomics* 13(1), doi:10.1186/1471-2164-13-113
- Serratos, J. A. (2009). El origen y la diversidad del maíz en el continente americano. <https://www.greenpeace.org/archive-mexico/Global/mexico/report/2009/3/el-origen-y-la-diversidad-del.pdf>. Accessed 10 Feb 2019
- Sevilla, R., y Chura, J. (1999). Country reports. Peru. En: Taba S (ed) *Latin American Maize Germplasm conservation: core subset development and regeneration*. Proceedings of a workshop held at CIMMYT, 1–5 June 1998, Mexico D.F. International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT), Mexico, pp 38–41
- Shukla, V. K., Doyon, Y., Miller, J. C., DeKolver, R. C., Moehle, E. A., Worden, S. E. ... Urnov, F. D. (2009). Precise genome modification in the crop species *Zea mays* using zinc-finger nucleases. *Nature* 459(7245), 437–441. doi: 10.1038/nature07992
- Stich, B., Maurer, H. P., Melchinger, A. E. y Frisch, M. (2006). Comparison of linkage disequilibrium in elite European maize inbred lines using AFLP and SSR markers. *Mol. Breed.* 17(3), 217-226.
- Thirunavukkarasu, N., Hossain, F., Shiriga, K., Mittal, S., Arora, K., Rathore, A. ...Gupta, H. S. (2013). Unraveling the genetic architecture

- of subtropical maize (*Zea mays* L.) lines to assess their utility in breeding programs. *BMC Genomics* 14, 877 doi:10.1186/1471-2164-14-877
- Vain, P., McMullen, M. D., y Finer, J. J. (1993). Osmotic treatment enhances particle bombardment-mediated transient and stable transformation of maize. *Plant Cell Rep.* 12(2), 84–88. doi: 10.1007/BF00241940
- Van Inghelandt, D., Melchinger, A. E., Lebreton, C. y Stich, B. (2010). Population structure and genetic diversity in a commercial maize breeding program assessed with SSR and SNP markers. *Theor. Appl. Genet.* 120(7), 1289-1299.
- Vigouroux, Y., Glaubitz, J. C., Matsuoka, Y., Goodman, M. M, Sánchez G., J. y Doebley, J. (2008). Population structure and genetic diversity of New World maize races assessed by DNA microsatellites. *Am. J. of Botany.* 95(10), 1240-1253.
- Walters, D., Vetsch, C., Potts, D., y Lundquist, R. (1992). Transformation and inheritance of a hygromycin phosphotransferase gene in maize plants. *Plant Mol. Biol.* 18(2), 189–200. doi: 10.1007/BF00034948
- Wang, A.S. (1987). Callus induction and plant regeneration from maize mature embryos. *Plant Cell Reports* 6(5), 360, doi.org/10.1007/BF00269560
- Wang, K., Frame, B., Ishida, Y., y Komari, T. (2009). Maize transformation. In *Handbook of Maize: Genetics and Genomics*, Bennetzen J. L. y Hake S. (eds) (Springer Science + Business Media LLC), 609–639. doi: 10.1007/978-0-38777863-1
- Warburton, M. L., Reif, J. C., Frisch, M., Bohn, M., Bedoya, C., Xia, X. C. ... Melchinger, E. (2008). Genetic diversity in CIMMYT nontemperate maize germplasm: Landraces, open pollinated varieties, and inbred lines. *Crop Sci.* 48(2):617–24.
- Xia, X. C., Reif, J. C., Hoisington, D. A., Melchinger, A. E., Frisch, M. y Warburton, M. L. (2004). Genetic diversity among CIMMYT maize inbred lines investigated with SSR markers: I. lowland tropical maize. *Crop Sci.* 44(6): 2230-2237.
- Xia, X. C., Reif, J. C., Melchinger, A. E., Frisch, M, Hoisington, D. A. ...Warburton, M. L. (2005). Genetic diversity among CIMMYT maize inbred lines investigated with SSR markers: II. subtropical tropical midaltitude and highland maize inbred lines and their relationships with elite US and European maize. *Crop Sci.* 45(6): 2573-2582
- Xu, Y., Skinner, D. J., Wu, H., Palacios-Rojas, N., Araus, J. L., Yan, J., ... Crouch, J. H. (2009). Advances in maize genomics and their value for enhancing genetic gains from breeding. *International journal of*

- plant genomics, 2009: 957602. doi:10.1155/2009/957602
- Zhi, L., TeRonde, S., Meyer, S., Arling, M. L., Register, J. C. III, Zhao, Z-Y, Jones, T. J, Anand, A. 2015. Effect of *Agrobacterium* strain and plasmid copy number on transformation frequency, event quality and usable event quality in an elite maize cultivar. *Plant Cell Rep.* 34(5), 745–754. doi: 10.1007/s00299-014-1734-0.
- FAO. (2019). El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Progresos en la lucha contra la pérdida y el desperdicio de alimentos. Roma.
- Paliwal, R. L. (2001). Introducción al maíz y su importancia. En: El maíz en los trópicos: mejoramiento y producción. Paliwal, R. L.; G. Granados; H. R. Laffite; A. D. Violic (Edes.). FAO, CIMMYT. Roma, 2001. en: [https:// curlaca.vunah.files.wordpress.com/2010/04/el-maiz-en-los-tropicos.pdf](https://curlaca.vunah.files.wordpress.com/2010/04/el-maiz-en-los-tropicos.pdf)
- Ranum, P.; J. P. Peña-Rosas; M. N. GarciaCasal. 2014. Global maize production, utilization, and consumption. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1312(2014). 105–112. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/nyas.12396/epdf>.
- Salhuana, W. (2004). Diversidad y descripción de las razas de maíz en el Perú. Cincuenta años del Programa Cooperativo de Investigaciones en Maíz (PCIM). La Molina. Lima-Perú. pp 204-251.
- Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue cultures. *Physiological Plantarum* 15:473-497
- Sheridan, W. P., King, R. W., & Gerstman, M. (1982). Fever as an Adverse Reaction to Carbamazepine. *Australian and New Zealand Journal of Medicine*, 12(5), 520-522.

CORRESPONDENCIA

PhD. Iris Betzaida Pérez Almeida
irispereza01@gmail.com