

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



Poliembrionía y Enanismo en Genotipos Segregantes de Cruzamientos entre una Población de Maíz Poliembriónico y Líneas Endogámicas

Por:

DANIEL FLAVIANO VELÁZQUEZ PRADO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México.
Junio, 2013.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Poliembrionía y Enanismo en Genotipos Segregantes de Cruzamientos entre
una Población de Maíz Poliembriónico y Líneas Endogámicas

Por:

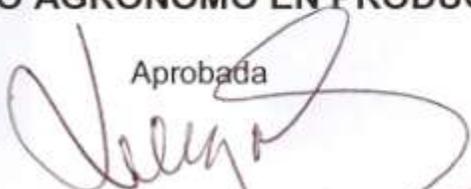
DANIEL FLAVIANO VELÁZQUEZ PRADO

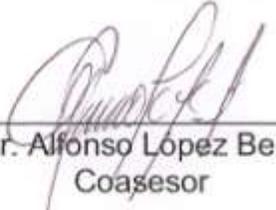
TESIS

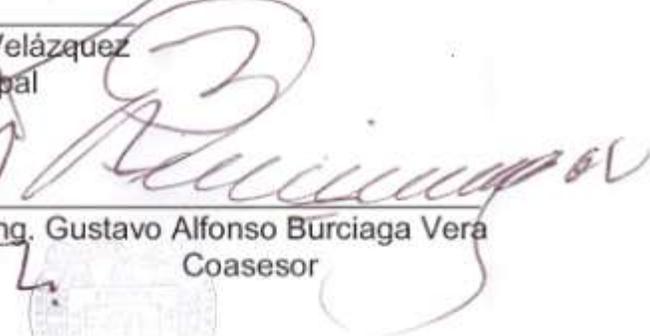
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

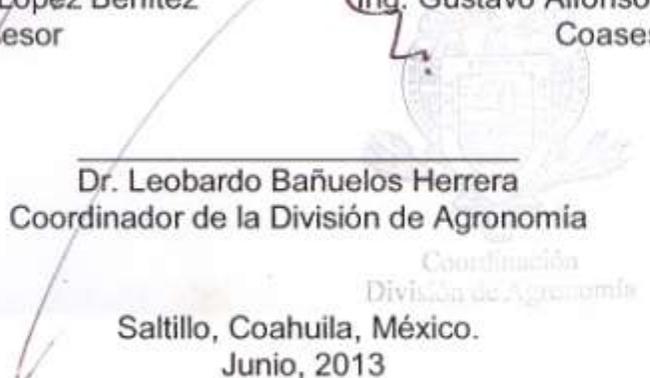
INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada


Dr. José Espinoza Velázquez
Asesor Principal


Dr. Alfonso López Benítez
Coasesor


Ing. Gustavo Alfonso Búrciaga Vera
Coasesor


Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía

Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México.

Junio, 2013

A DIOS por oportunidad de concluir mis estudios y que mejor en esta
universidad

A MIS PADRES

Sra. Minerva Prado Martínez

Sr. Donato Velázquez Mina

A ustedes, que a lo largo de mi vida me guiaron siempre por el buen camino, me brindaron apoyo y consejos, y en los momentos difíciles me alentaron a seguir adelante, anhelando siempre mi preparación, siendo esta la más valiosa de las herencias.

A MIS HERMANOS, **Ray Mundo, Fabiola, Elías, Imelda, Dulce y Ángel Donato**, porque sin el apoyo de ustedes no hubiera sido posible, en especial quiero agradecer a Ray Mundo, Fabiola, y Elías, por el apoyo moral y económico, ya que son grandes pilares de esta gran familia, a por supuesto no me podía olvidar de **Reyli Emmanuel** que me hizo pasar momentos divertidos en días difíciles.

A MIS TÍOS y primos los cuales siempre estuvieron al pendiente de mis estudios y por ser miembros de la familia muy indispensable.

A MIS AMIGOS **José Refugio, Vicente Octavio, Isa Saúl, José Carlos, Agustín, Néstor, Eric, Max y Hernán**, por su a mitad consejos e ideas durante mi preparación profesional.

Son muchas personas especiales a las que me gustaría dedicar el trabajo están aquí otras en mis recuerdos. Si alguna vez llegan a leer esta dedicatoria quiero darle las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado.

AGRADECIMIENTOS

En principio quiero agradecer a dios por la oportunidad de nacer, y acompañarme a culminar con éxito el esfuerzo de todos estos años de estudio.

A mi “**Alma Terra Mater**” Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por la oportunidad de estudiar en ella, dándome una identidad propia para la vida laboral.

Al **departamento de Fitomejoramiento y sus profesores**, por darme los conocimientos necesarios, para culminar mis estudios y el presente trabajo de investigación.

Al **Dr. José Espinoza Velazquez**, por la oportunidad de darme un tema de investigación y ser mi asesor, además de dedicar un poco de su tiempo en sus valiosas sugerencias en la realización de trabajo.

A mi comité de asesores por sus atinadas correcciones, para presentar un buen trabajo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	PÁG.
ÍNDICE DE CUADROS -----	III
ÍNDICE DE FIGURAS -----	IV
RESUMEN -----	1
I.INTRODUCCIÓN -----	3
Objetivos -----	6
Hipótesis -----	6
II. REVISIÓN DE LITERATURA -----	7
Importancia del maíz-----	7
Producción mundial de maíz -----	8
Producción nacional de maíz-----	10
Clasificación de maíz moderno -----	12
Mejoramiento genético del maíz-----	13
Poliembrionía -----	14
Poliembrionía (PE) en maíces bajo estudio -----	15
Calidad nutrimental del maíz poliembrioníco-----	18
III. MATERIALES Y MÉTODOS-----	21
Descripción del área de estudio -----	21
Material genético-----	21
Establecimiento de los materiales en invernadero -----	23
Diseño experimental y análisis estadístico -----	24
Variables de estudio -----	25
1. Características de interés general en el estudio-----	25
2. Características anatómicas de las plántulas-----	26
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN-----	29

1. Variables generales: germinación y anomalías de plántula -----	29
Cruzas F_2 Directas, Recíprocas y Retrocruzas (RC_1)-----	30
2. Características de plántulas y mediciones de peso y longitud-----	41
F_2 cruzas directas y recíprocas-----	42
Familias de alta frecuencia PE y Retrocruzas (RC_1) -----	45
Análisis de datos (ANVA) para las cruzas F_2 directas y recíprocas -----	47
Análisis de datos en plántulas RC_1 y Familias de alta frecuencia PE -----	51
V.CONCLUSIONES -----	57
VI.LITERATURA CITADA -----	58

ÍNDICE DE CUADROS

PÁG.

Cuadro 2.1. Variedades y usos del maíz-----	12
Cuadro 2.2. Frecuencias Poliembriónicas en maíz a través de los años observadas en poblaciones desarrolladas por el IMM-UAAAN. -----	16
Cuadro 3.1. Genotipos utilizados. -----	22
Cuadro 4.1. Valores promedio de las variables [‡] de interés general de los cuatro grupos genotípicos y poblaciones de referencia. -----	33
Cuadro 4.2. Pruebas de Ji cuadrada a los genotipos segregantes F ₂ Directa, Recíproca y Retrocruzas RC ₁ . -----	35
Cuadro 4.3. Pruebas de Ji cuadrada para los genotipos segregantes “porte normal: porte enano”. -----	38
Cuadro 4.4. Análisis de varianza de las grupos de cruzas F ₂ para las dos variables [‡] de interés general. -----	39
Cuadro 4.5. Análisis de varianza en familias de alta frecuencia poliembriónica, variable PE. -----	40
Cuadro 4.6. Análisis de varianza en familias de alta frecuencia poliembriónica, variable PE. -----	41
Cuadro 4.7. Valores promedio de las variables de plántula en los grupos F ₂ , directas y recíprocas y genotipos testigo y de referencia. -----	43
Cuadro 4.8. Valores promedio de las variables de plántula en los grupos RC ₁ y Familias PE, y genotipos testigo y de referencia. -----	46
Cuadro 4.9. Análisis de varianza en los genotipos de F ₂ directas y recíprocas, diferentes variables. -----	48
Cuadro 4.10. Comparación de medias para la cruzas F ₂ directas y recíprocas en las variables [‡] que presentaron diferencias estadísticas. -----	50
Cuadro 4.11. Análisis de varianza en los genotipos de Retrocruzas (RC ₁) y Familias de alta frecuencia PE poliembriónica. -----	53
Cuadro 4.12. Comparación de medias para la Retrocruzas (RC ₁) Y Familias de alta frecuencia PE en las variable [‡] que presentaron diferencias estadísticas -----	54
Cuadro 4.13. Comparación de medias en Familias de alta frecuencia PE en las variable [‡] que presentaron diferencias significativas. -----	56

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁG
Figura 2.1. porcentajes de producción a nivel mundial. -----	9
Figura 2.2. Resumen nacional de producción de maíz en México, 2011. -----	11
Figura 3.1. Esquema de siembra. -----	23
Figura 3.2. Planta poliembrionica. -----	25
Figura 3.3. Ejemplo en la medición de características agronómica en la planta de maíz. -----	26
Figura 4.1. Planta con Anormalidades. -----	31

RESUMEN

El maíz es de gran importancia para la alimentación humana y animal además de uso industrial. La poliembrionía (PE) es una característica singular en maíz y se refiere, en lo general, a la producción de varios embriones en una semilla, los cuales germinan de manera simultánea y se desarrollan en plantas completas. Previsiblemente, la PE tiene potencial como carácter productivo, por un lado, el que una semilla de maíz contenga dos ó más embriones es un fenómeno de gran importancia ya que en el germen se concentran la mayor parte de aceites y proteínas de calidad, confiriendo al grano mayor calidad nutrimental, ; y por otra parte, la posibilidad de incrementar producción de materia seca por semilla y por unidad de superficie.

En el presente trabajo se pretende seguir el patrón de herencia de la poliembrionía estudiada en las poblaciones del IMM-UAAAN, así como la segregación del enanismo, valorando la capacidad del método para recuperar la PE en genotipos segregantes a nivel de F_2 y Cruzas de prueba y caracterizar genotipos por su sistema radical seminal.

El germoplasma utilizado incluye la población IMM-UAAAN-BAP, braquítica de alta poliembrionía, dos familias de medio hermanos, una de BAP y otra de NAP (porte normal, alta frecuencia poliembriónica), como referentes de la poliembrionía; seis líneas de alta endogamia, que son exóticas a los materiales poliembriónicos y que representan versiones de maíz común, grano blanco, cinco de ellas son material generados por el IMM-UAAAN y otra que proviene del CIMMYT. Se utilizó como testigo, al híbrido comercial AN-447, que junto a las seis líneas endogámicas, son genotipos representativos del maíz común, sin el mutante “poliembrionía”.

Las generaciones de selección en cada población fueron analizadas bajo un diseño completamente al azar, tres repeticiones, aplicando el análisis de varianza correspondiente. Los casos donde los tratamientos resultaron significativos, se aplicó la prueba de medias Tukey ($\alpha = 0.05$). El método estadístico aplicado para probar la segregación de la PE en los diversos genotipos fue la Ji cuadrada del tipo “bondad de ajuste” (goodness of fit).

Los análisis varianza aplicados a los grupos F_2 , directas y recíprocas, así como a los RC_1 , en las variables PG y PA, los datos permiten destacar que la germinación de invernadero en todos los genotipos fue buena y prácticamente igual ($P > 0.05$), que la proporción de anomalías (PA) fue baja, sin diferencias entre genotipos. Los

resultados del análisis genético aplicado a estos datos confirman que la PE presente en los maíces IMM-UAAAN, es controlada por un sistema de dos loci en interacción epistática del tipo recesivo duplicado, es de decir que la segregación en F_2 y en RC_1 es de dos clases (plantas normales: plantas múltiples por semilla o plantas poliembriónicas) en proporción 15:1 y 12:4, respectivamente, cuya penetrancia puede ser incompleta en función del fondo germoplásmico donde se inserte.

La segregación relativa al fenómeno enanismo o condición braquítica presente en BAP está dado por un gen en homocigosis recesiva, simbolizado por ($br_2 br_2$). En esta investigación la cruce directa o recíproca entre BAP x cualquier genotipo de maíz común, como las líneas endogámicas utilizadas en este trabajo, generan una progenie F_1 constituida en su totalidad por plantas de altura normal, la F_2 exhibe progenies de 75 % de tipo normal y 25 % de tipo enana, y de 50 % de cada clase en RC_1 , corroborando la herencia simple de este carácter.

En resumen, los datos importantes en las plántulas a los 14 días de edad, permiten señalar que los genotipos PE desarrollan la parte aérea con el mismo peso que lo hacen las plántulas Individuales. En general, el peso fresco de la raíz es 20 a 30 % menor que el peso fresco del tallo (promedios: 2.43 vs 3.37 g).

Las variables de número de estructuras RC y NH presentan semejanza con lo observado en las familias F_2 , aunque ligeramente más altas. Sin embargo, en los genotipos PE de esta sección, el NC promedio es mayor de 1.0 denotando la ocurrencia de coleótilos múltiples por grano germinado en plántulas PE. La proporción de NC-múltiples va de 12 a 20 %, notablemente superior a los de los observados en los grupos No-PE.

El análisis e interpretación de resultados bajo las condiciones de este trabajo permiten señalar que la poliembriónía de los maíces PE del IMM-UAAAN es heredable, simple, interacción génica epistática, que es un hecho la posibilidad de recuperar la PE inserta en diferentes fondos germoplásmicos, lo cual será de utilidad en la creación de un fondo amplio de variación genética PE para uso posterior en el diseño de variedades de este tipo.

Palabras clave: *Zea mays* L, poliembriónía, análisis genético mendeliano, interacción génica de dos loci.

I.INTRODUCCIÓN

El maíz es uno de los cultivos de mayor importancia económica y alimenticia en el mundo, también se le considera un modelo de estudio en genética y disciplinas afines. Sus cualidades vegetativas y reproductivas, anual y alógama, así como su gran plasticidad, lo sitúan como especie ideal para estudiar aspectos poblacionales, fisiológicos, bioquímicos, evolutivos, alimenticios, procesos industriales, etc (Griffiths *et al.*, 2005). Estas cualidades se complementan con una disponibilidad amplia de variedades para siembra, de manejo agrícola relativamente fácil y económico.

El nombre técnico del maíz es *Zea mays* L. o *Z. mays* L. ssp. *mays* (Illis H H y J Doebley, 1980, citado por Doebley, 2003). El origen de la especie ha sido objeto de numerosos trabajos, con base en los cuales se han sugerido varios sitios de origen que van desde Paraguay en América del Sur hasta Guatemala y México en Mesoamérica (Paliwal *et al.*, 2001). Sin embargo, en la actualidad existe un consenso para reconocer como centro de origen de *Zea mays* subsp. *mays* a la región de Mesoamérica, localizada entre el centro y sur de México hasta América Central. se han descubierto restos arqueobotánicos de maíz en cuevas del Valle de Tehuacán, estado de Puebla en México, que se calcula tienen una antigüedad de 4500 a 7000 años. Asimismo, se han encontrado en la cueva de Guilá Naquitz en los valles centrales de Oaxaca, México restos con una antigüedad de 6200 años aproximadamente (Benz, 2001; Piperno y Flannery, 2001). La interacción genotipo x ambiente y el aislamiento geográfico favorecieron la diseminación y distribución geográfica de nuevas variantes de maíz (Paliwal *et al.*, 2001; Kato *et al.*, 2009; Tiessen, 2012).

El hombre ha mantenido activo el proceso de diversificación, mediante el cual ha seleccionado y modificado características genotípicas de la planta, que le

han permitido la formación de nuevas poblaciones adaptadas a diversos climas y tipos de suelos (Kato *et al.*, 2009).

El mejoramiento de plantas puede auxiliarse con la utilización de mutantes en la versión de genes mayores, que tienen un efecto fenotípico fácilmente ubicable y valorado como de aplicación agronómica útil. En lo general, cualquier clón vegetativamente propagado, puede ser tratado como mutágeno, e incluso con un único mutante deseable o una parte de un propágulo mutado puede ser multiplicado como un tipo mejorado de la variedad original (Tiessen, 2012).

Desde los años setenta (Siglo XX) investigadores del Instituto Mexicano del Maíz “Dr. Mario E. Castro Gil” de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (IMM-UAAAN), en Saltillo, Coahuila, México, han utilizado mutantes de enanismo (Braquítico 2) y poliembrionía (PE) con fines de estudio y utilización en el diseño de nuevas variedades de maíz. La PE, desde su aparición, denominado inicialmente como “carácter plantas gemelas” fue observada por vez primera en una población denominada SSE “selección súper enana” derivada con el propósito de utilizar agronómicamente el enanismo y aprovechar la amplia base genética concitada al integrar diversas fuentes germoplásmicas, incluyendo los genes de braquítico-2 y “tallo cuadrado”, este último proveniente de una fuente de maíces amarillos de Argentina (Castro, 1973). La frecuencia inicial de gemelas fue de aproximadamente 2% (Castro *et al.*, 1979) y a partir de entonces, aplicando un programa continuo de selección recurrente en dos poblaciones básicas de maíz, una de porte normal y otra enana, la frecuencia del carácter “poliembrionía” ha alcanzado frecuencias de 60 a 70 % (Espinoza *et al.*, 1998; Espinoza *et al.*, 2008; Espinoza *et al.*, 2012).

La poliembrionía (PE) es una característica singular en maíz y se refiere, en lo general, a la producción de varios embriones presentes en una cariósida (órgano denominado agronómicamente “semilla”), los cuales germinan de manera simultánea y con altas probabilidades de desarrollarse en plantas completas, incluyendo de una a dos mazorcas por planta. Previsiblemente, la PE tiene

potencial como carácter productivo; por un lado, el que una semilla de maíz contenga dos ó más embriones es un fenómeno de gran importancia ya que en el germen se concentran la mayor parte de aceites y proteína de calidad, confiriendo al grano mayor calidad nutrimental; y por otra parte, la posibilidad de incrementar producción de materia seca por semilla y por unidad de superficie (Espinoza *et al.*, 1998; 2008). Estas características favorables asociadas a la PE justifican el uso de este mutante en la integración de variedades de maíz especializadas en calidad nutrimental.

Los programas de mejoramiento genético están dirigidos a seleccionar aquellos individuos cuyos genes expresen idealmente alguna característica de interés. La condición gemelar o de poliembrionía (PE) en semillas de maíz es una característica natural que puede utilizarse como vía alterna en el diseño de nuevas variedades, pues además del potencial de rendimiento de grano se puede seleccionar por su valor nutrimental del grano (Espinoza *et al.*, 1998).

El presente trabajo de investigación se propone seguir el patrón de herencia de la poliembrionía estudiada en las poblaciones del IMM-UAAAN, así como la segregación del enanismo, valorando la capacidad del método para recuperar la PE en genotipos segregantes a nivel de F₂ y Cruzas de prueba o retrocruzadas.

Objetivos

1. Identificar genotipos que exhiben la PE, en grupos F_2 , RC_1 (cruzas de prueba) y familias de alta frecuencia PE segregantes.
2. Validar el mecanismo de herencia propuesta para este tipo de PE.
3. Caracterizar genotipos por su sistema radical seminal.

Hipótesis

1. La PE bajo estudio es de herencia simple, controlada por dos loci en interacción epistática y puede recuperarse en dos generaciones filiales o de retrocruzas.
2. La PE está asociada a modificaciones notables del sistema radical seminal.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia del maíz

El maíz, como producto de utilización humana, ha evolucionado positivamente a lo largo de su historia. Con el correr del tiempo, las industrias vinculadas a la cadena del maíz se han ido desarrollando en forma progresiva, transformando un grano cuyo único destino era la alimentación humana en una materia prima esencial para el desarrollo de múltiples procesos industriales (Morris y Pereira, 2000; Paliwal *et al.*, 2001; Tiessen, 2009).

De todos los cereales existentes, el maíz es uno de los más importante a nivel mundial, debido a que actualmente existen una tendencia creciente por la diversificación en el uso de esta gramínea, ya que se puede utilizar como ingrediente principal en alimentos balanceados para animales pecuarios, también en la industria se utiliza para la producción de almidón, glucosa, dextrosa, ceras, fructosa, aceites, botanas, etanol, etc. así como para la elaboración de algunas bebidas alcohólicas y otros productos utilizados como materia prima en las industrias mineras, textil, electrónicas, farmacéuticas, cosmética, alimentaria, etc. (Kato *et al.*, 2009 Paliwal *et al.*, 2001).

En este contexto de utilización, es previsible que la demanda de maíz como insumo industrial y elemento básico en la alimentación humana y de especies pecuarias crezca en las próximas décadas ya sea por el uso industrial como materia prima en países en vías de desarrollo a una tasa mayor que la relativa al trigo o del arroz. Byerlee y Saad (1993) hicieron proyecciones en las que la tasa de incremento de la demanda de maíz durante el período 1990-2005 se proyectó en 4,1% anual en los países en desarrollo, comparado con una tasa global de 2,6%. También se prevé que en el periodo 2012/13 alcance 1,3 % (FIRA, 2012).

Desde el punto de vista alimentario, económico y social, el maíz es el cultivo más importante de México ya que ocupa alrededor de 40 % de la superficie dedicada a la agricultura, lo que en términos generales representa ocho millones de hectáreas. Observando datos oficiales sobre el tema puede decirse que el promedio de superficie sembrada de maíz en el último decenio en México es de 7.8 millones de ha (FIRA, 2012; SAGARPA, 2007; SIAP; SAGARPA, 2010). Analizando al maíz en relación con los demás cereales que se producen en México (trigo, sorgo, cebada, arroz y avena, principalmente) en cuanto a la evolución del volumen de la producción de maíz, la tasa media anual del crecimiento (TMAC) de 1996 a 2006 fue de 2.0% (SIAP, SAGARPA, 2010).

La importancia del maíz en México corresponde a diferentes formas de utilización y por que es el centro de origen de este importante cultivo (Benz, 2006). También, el constante crecimiento desmesurado de la población mundial, lo ubican como entre los más consumidos del mundo, ya que se puede utilizar en diferentes formas como alimento humano, alimento animal o en la industria. Siendo de gran demanda en muchos países del mundo.

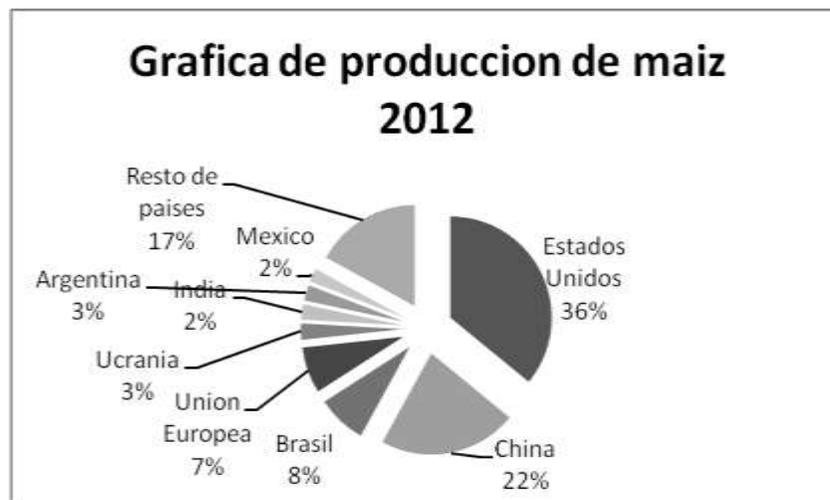
Producción mundial de maíz

La producción de maíz a nivel mundial presentó mayor incremento en el volumen de producción según la FIRA y SARGARPA, pues con una tasa media anual de crecimiento (TMAC) de 2.7%, pasó de 615.8 millones en 1998 a 822.7 millones en el 2008, y proyectó que para 2012/13 el volumen global alcanzara 905.2 millones de ton (FIRA, 2012). El 73% de la producción de maíz se concentró en 8 países (Figura 2.1); Estados Unidos ocupó el 1er lugar con 36%, China el 2° con el 22%, Brasil en el 3° con el 8%, la unión europea en 4° con 7%, ucrania en 5° con el 3% al igual que Argentina en 4° y por ultimo México e india con un 2% en 5° y 6° de la producción. El resto de los países que en conjunto agruparon el 17% del volumen producido de maíz. (FIRA, 2012).

En cuanto a rendimiento por unidad de superficie de los principales productores de maíz, se destaca que Estados Unidos presentó un promedio de 9 t ha⁻¹, sin embargo, hubo países como Kuwait y Jordania que se ubicaron en los últimos lugares de volúmenes producción pero lograron los mejores rendimientos en el periodo, superando las 18 t ha⁻¹, destacando además que en 1998 Jordania obtuvo 8.9 t ha⁻¹ y en 2008 logró llegar a 18.4 t ha⁻¹. Cabe mencionar también que a pesar de que México se encontró entre los principales países productores y sus rendimientos se incrementaron de manera constante, su promedio en el periodo (3.17 t ha⁻¹) estuvo muy por debajo del promedio mundial (4.6 t ha⁻¹), ocupando el lugar 69 a nivel internacional. (FIRA. 2012, SIAP.2008).

Se prevé que la utilización total del cereal para consumo alimentario aumente un 1,3 % en 2012/13, al mismo ritmo que el crecimiento de la población mundial, por lo que el consumo per cápita 152,6 kg en el mundo en su conjunto se mantendrá estable (FAO, 2013).

Figura 2.1. porcentajes de producción a nivel mundial.



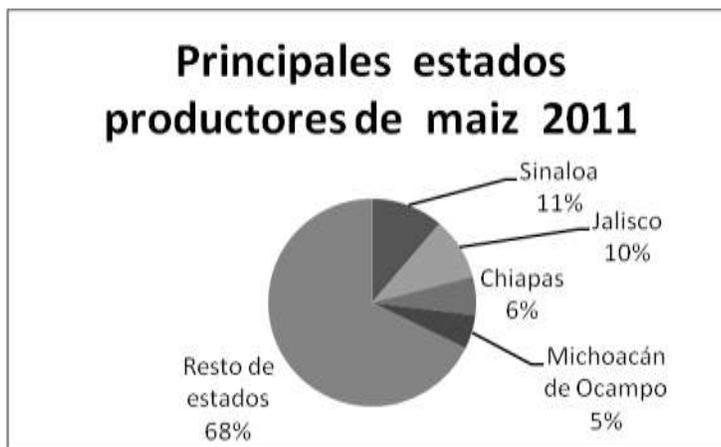
Producción nacional de maíz

En México la agricultura de maíz se practica en varios sistemas de producción, en términos generales pueden señalarse las siembras de temporal y las bajo condiciones de riego y altos insumos. Los dos segmentos presentan diversas variantes en función de las regiones agroecológicas y la tipificación de los productores. Del total de los productores de maíz, aproximadamente 90% tienen parcelas menores de cinco hectáreas y más del 80% utiliza semilla propia, adaptada a una enorme diversidad de situación agroclimática (SAGARPA, 2007). Cabe mencionar que la superficie cosechada los últimos cinco años presenta variaciones muy notables, principalmente por cuestiones climatológicas relativas a eventos de sequía y heladas aniquiladoras; la superficie cosechada en 2007 y 2008 es muy similar, del orden de 7.2 millones de ha, en 2009 se presentó una caída a 6.2 millones de ha, un repunte en 2010 a 7.1 millones de ha, y en 2011 una caída, la más drástica del quinquenio analizado, a 6.0 millones de ha (con datos de FIRA, 2012).

Las unidades de producción agrícola en 2007 eran dos millones 793 mil 940. Por otra parte en 2010 se contabilizaron 85 mil 899 unidades de transformación, de las cuales 62 producen harina de maíz y 85 mil 837 generan nixtamal y tortillas (SIAP 2011., SAGARPA, 2010).

La producción nacional en 2011 fue de 17 millones 635 mil toneladas, de maíz blanco en el Cuadro 2.1, donde Sinaloa está en primer lugar, con 11% de la producción nacional en segundo lugar Jalisco con 10%, Chiapas en el tercero con 6 % y Michoacán en el cuarto puesto con 5%. Todos estos estados producen el 32% del nivel nacional y el otro porcentaje lo completan todos los demás estados de la república Figura 2.2.

Figura 2.2. Resumen nacional de producción de maíz en México, 2011.



Grafica hecha con datos de SIAP 2011

La importación y exportaciones de maíz en México, en el 2011 fueron de 9.6 millones de toneladas de maíz amarillo con un valor de 290.3 dólares por tonelada alcanzando niveles records en la importación de este grano, las exportaciones fueron de 40,445 toneladas en mayor parte maíz blanco ya que México se produce este tipo maíz mayor volumen (FIRA, 2012 Y SIAP 2011).

Durante los últimos seis años la disponibilidad de maíz grano para cada mexicano fue de 178 kilogramos. Se conoce que el consumo per cápita en México es de al año 74 kilogramos, lo que significa que con el nivel de producción actual, hay 104 kilogramos excedentes para cada habitante del país. (Agosto-octubre de 2010) Cada persona gasta trimestralmente 148.34 pesos en productos elaborados con este grano; por hogar la erogación es de 625.58 pesos, en ese lapso se gastó un total de 16 mil 723.48 millones de pesos en productos derivados de maíz grano (SIAP, 2012. SAGARPA, 2010).

Clasificación de maíz moderno

Las primeras clasificaciones de maíz las realizó Sturtevant en 1899, basando sus estudios en la composición del endospermo. Este sistema fue utilizado durante 40 años, hasta que Kuleshov (1933) clasificó al maíz con base al tipo de endospermo en los siguientes grupos: Maíz dentado, maíz cristalino, maíz dulce, maíz harinoso, maíz reventador o palomero, maíz ceroso y maíz tunicado.

Cuadro 2.1. Variedades y usos del maíz

Nombre de la variedad	Usos
Maíz cerero o ceroso	Se utiliza en la elaboración de adhesivos y gomas
Maíz cristalino	Como alimento y procesos
Maíz dulce	Como alimentos, directos y enlatados
Maíz dentado	Como alimento en las industrias masa, tortillo, harinas
Maíz palomero	Como alimento
Maíz semidentado	Como alimento
Maíz tunicado	Para estudios en genética y mejoramiento general.

Fuente: Centro de investigación para el Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT, 1988, 1996).

En México se produce dos diferentes variedades de maíz blanco y amarillo. El maíz blanco, es utilizado para el consumo humano, por su alto contenido nutricional, en tanto el amarillo se destina al procesamiento industrial y alimentación humana y animal.

Mejoramiento genético del maíz

La domesticación de maíz es uno de los ejemplos más ilustrativos de una modificación de una planta para satisfacer las necesidades del hombre. Algunas de las adaptaciones en este proceso: a) el desarrollo de un raquis de la mazorca menos quebradizo, b) el desarrollo de una cobertura suave de la mazorca para facilitar la extracción de los granos y c) el desarrollo de mazorcas más grandes y con más líneas de granos (Wenke, 1980).

El mejoramiento genético es un proceso continuo, con ciclos repetitivos de recombinación, selección y mutación. Es por ello que en realidad el mejoramiento no es otra cosa más que evolución en acción pero manejado de manera arbitraria por la o el fitomejorador. La evidencia histórica indica que se ha logrado un gran avance, ya que a partir de la revolución verde en los años 50, la producción de trigo y de maíz se ha incrementado a un ritmo promedio de alrededor del 10% por década. (Kato *et al* 2009 y Tiessen, 2012).

Contar con variabilidad genética es el principal paso dentro de un programa de mejoramiento, la cual permite la selección de variedad para diversos fines (Brunner, 1995), tales como mayor rendimiento, contenido de proteínas o aceites, tolerancia a factores bióticos o abióticos, entre otros.

Dentro de las herramientas de mejoramiento genético disponibles para incrementar la diversidad genética, se mencionan como más importantes, la hibridación, la recombinación y la mutación, natural o inducida (Atak *et al.*, 2004; Donini y Sonino, 1998;). Una parte de la diversidad genética se genera por mutaciones puntuales durante la replicación del ADN o alguna etapa del ciclo celular. Por lo regular, el ADN se replica dentro del núcleo generando copias idénticas (Tiessen, 2009).

Poliembrionía

Un fenómeno que se debe a una mutación, como lo es la poliembrionía es de interés considerando que dos o más embriones por semilla pudieran significar un mayor contenido de aceite y proteína embrionaria, aunado al ahorro en semillas para alcanzar una población determinada por unidad de superficie (Espinoza *et al*, 2008).

Sharman (1942, citado por Bhanwra *et al.*, 2001) observó una línea de maíz que tenía dos embriones que emergían de un solo grano, al diseccionarlos aparentaban estar completamente separados excepto por el escutelo. Ambos embriones eran idénticos y produjeron plantas típicas con el número normal de cromosomas $2n$.

La poliembrionía puede ser definida como la formación de embriones múltiples desde un cigoto, por su fisión en una planta, en la etapa de desarrollo temprana. El fenómeno ocurre tanto en animales como en vegetales superiores. Los monocigotos gemelos (duplos) constituyen el ejemplo más simple de poliembrionía. Sin embargo, se puede observar casos con número superiores de embriones funcionales con triales (varias especies vegetales), y hasta de los 1000 embriones en un solo cigoto en ciertas avispas parasitas (Borrer *et al.* 1989).

Por otra parte hay evidencia que cierto tipo PE en maíz es de base heredable de carácter cuantitativo (Castro, 1979; Rodríguez, 1981); sin embargo, el comportamiento inconsistente en cuanto a la fijación de la PE en grupos genéticos que incluyen la característica, permiten suponer la participación de otros fenómenos genético-reproductivos como la interacción núcleo-citoplasma y la partenogénesis de tipo reduccional (Zverzhanskaya *et al* 1989).

Algunas ocasiones el embrión suele desarrollarse a partir de saco embrionario haploide de la ovocélula y se le conoce como patogénesis haploide. Esta forma de apomixis es rara, pero se ha encontrado en maíz y algunas otras especies de importancia económica (Villarreal *et al* 2010).

Otra causa de PE es el aludido por Hallauer y Miranda, (1988 teniendo como base la información de Kermicle, 1969) y se refiere a una mutación recesiva designada “gametofito indeterminado” que afecta al saco embrionario de los homocigotes; algunos de los efectos de este gen son: esterilidad masculina, 50% de casos en plantas; plantas abortivas o defectuosas, 25% de plantas; poliembrionía en 6% de semillas, endospermo normal, que recibieron el gen de madres; y monoploidía en el 3%. De este modo, el gen también ocasiona la pérdida de las funciones normales en el desarrollo del gametofito femenino.

Poliembrionía (PE) en maíces bajo estudio

La poliembrionía es un fenómeno de interés, ya que da origen a dos o más plántulas-plantas adultas por semilla. Esto permite suponer que la cariopsis pudiera contener dos o más embriones y por lo tanto, la condición pudiera significar un mayor contenido de aceite y proteína embrionaria, y a su vez reduciría el número de semillas requeridas en campo al momento de la siembra permitiendo con ello un ahorro por el concepto semilla en el propósito de alcanzar una población determinada por unidad de superficie (Espinoza *et al.*, 1998).

Las poblaciones de interés PE que se han desarrollado en el Instituto Mexicano del Maíz “Dr. Mario E. Castro Gil” de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (IMM de la UAAAN) presentan un comportamiento único y diferente al que exhibe la PE por efecto del gen *ig* (gametofito indeterminado, Kermicle, 1969). Los análisis citogenéticos practicados hasta ahora no documentan, entre otros fenómenos, la presencia de monoploides sino la de triploides (Espinoza y Vega 2000).

Cuadro 2.2. Frecuencias Poliembriónicas en maíz a través de los años observadas en poblaciones desarrolladas por el IMM-UAAAN.

Investigador	Año	Porcentaje	Procedimiento
Castro G., M.	1973	1.5	Frecuencia de plantas gemelas es progenie de tallos cuadrados.
Castro G., M.	1975	4	Promedio de progenie de cruza fraternales entre plantas normales tallo cuadrado, plantas gemelas y sus combinaciones.
Rodríguez y Castro	1978	11.4	Dos sintéticos integrados cada uno por las 10 familias de MH de mayor poliembriónía.
Castro G., M	1979	7.4	Sintético integrado por las 10 familias con menor poliembriónía, polinizando N x N.
		19.6	Tercer ciclo de selección recurrente (fusión de los sintéticos aludidos en 1978, vía crusa doble criptica).
		33.3	Cuarto ciclo de selección a partir de las 13 mejores familias del ciclo anterior.
Rodríguez H., S.A.	1981	44.4	Quinto ciclo de la selección recurrente entre familias de hermano carnales.
		47.3	Sexto ciclo.
Gómez G.,J.	1982	46.2	Séptimo ciclo. Segunda recombinación de familias seleccionadas del sexto ciclo.
	1983	46.6	Sexto ciclo. Programa de selección recurrente de la población "doble embrión".

Fuente (ESPINOZA, *et al* 1998).

Investigadores del IMM de la UAAAN iniciaron el estudio de este tema al generar en 1973 la primera población de maíz que incluyó el fenómeno de la poliembriónía. Esta fue la población base o de origen denominada SSE (selección

súper enana), la frecuencia de la condición “plantas gemelas” (como se le llamaba a la poliembriónía en ese tiempo) fue de 1.5%, a partir de ella se propuso incrementar la frecuencia del carácter mediante un proceso de selección recurrente. En 1979 Castro llevó a cabo experimentos para determinar la variación fenotípica presente entre plantas gemelas, y encontró una varianza ambiental de 4.5% por lo cual concluyó que las plantas hermanas eran gemelas de apariencia idéntica.

Siguiendo el esquema de selección para incrementar la PE en la población poliembriónica de maíz por los investigadores del IMM-UAAAN, se consigna que en el año de 1991 la PE alcanzó 47%. Dado que la población PE presentaba plantas de porte enano y normal, se decidió dividirla en dos grupos, que dieron origen a los prototipos actuales, que son: 1) una población de porte alto normal y alta frecuencia poliembriónica (denominada en breve como NAP) y otra, 2) enana o braquítica de alta frecuencia poliembriónica (denominada BAP). La selección aplicada a estas dos poblaciones permitió que en 1996 se alcanzara por primera vez una frecuencia PE de 60 %. En ese mismo ciclo de selección, se derivaron dos nuevas poblaciones a manera de control de las primeras, una de ellas es la denominada en breve como NBP, contraparte de NAP, y la otra es la denominada como BBP, contraparte de BAP. En estas nuevas poblaciones, la estrategia es seleccionar en contra del mutante PE, es decir, se aplica una selección reversa. Durante los últimos 17 años, el manejo reproductivo de los cuatro grupos de interés poliembriónico ha sido a través de cruza fraternal con mezcla de polen (José Espinoza Velázquez, Comunicación personal).

El estado actual (a 2012) de la frecuencia del mutante PE en las poblaciones (NAP y BAP) generadas en el IMM-UAAAN se mantienen en porcentajes de 60 a 65 %, los cuales se consideran como proporciones altas. Por otra parte, las poblaciones de referencia (NBP y BBP) que están sometidas a selección reversa, han reducido sustancialmente la presencia de casos PE, llegando a niveles inferiores de 3%. También se revisó la propuesta de tipo de

herencia de la PE en estas poblaciones, llegándose a demostrar que esta PE está gobernada por un par de loci en interacción epistática recesiva duplicada, y con penetrancia incompleta (Rebolloza *et al*, 2011).

En otro nivel de inspección relacionado con este tipo de PE, se ha documentado que en las dos poblaciones PE, existe una proporción de casos donde las cariopsis que germinan en dos o más plántulas presentan de 10 a 14 % de casos con radículas múltiples, es decir dos o más radículas por grano germinado (Espinoza *et al.*, 2012). Sin duda, esta información está relacionada con los probables orígenes de estos tipos de poliembrionía. Actualmente se desarrolla investigación con el uso de marcadores moleculares para obtener información que respalde la hipótesis de que en estas poblaciones co-existen al menos dos tipos de poliembrionía (la originada por cleavage y la de origen nucelar) si es que no estuviera involucrada también algún tipo de apomixis (Avendaño, 2012).

Calidad nutricional del maíz poliembrionico

El maíz es, desde un punto de vista nutricional, superior a muchos otros cereales excepto en su contenido y calidad de proteínas.

El grano de maíz tradicional está compuesto por 70 a 75% de almidón, 8 a 10% de proteína y 4 a 5% de aceite, contenidos en tres estructuras: el germen (embrión), el endospermo y el pericarpio. El germen constituye el 10 al 12% del peso seco y contiene el 83% de los lípidos y el 26% de la proteína del grano. El endospermo constituye el 80% del peso seco y contiene el 98% del almidón y el 74% de las proteínas del grano. El pericarpio constituye el 5 al 6% del peso seco e incluye todos los tejidos de cobertura exterior, con un 100 % de fibras vegetales (Álvarez, 2006).

El grano de los híbridos de maíz generados en los últimos años contienen alrededor de 4% de aceite, de 8.3 a 11.3% proteína, de 69.1 a 86.0% almidón,

lípidos varían entre 4.0 y 7.0% y cenizas entre 1.1 y 1.7%(Méndez *et al.*, 2005; Paliwal *et al.*, 2001).

Pesev *et al.* (1976) hicieron la comparación de calidad nutricional entre una semillas de doble embrión y grano normal que provenía de una misma línea seleccionada hacia mayor poliembriónía, demostrando que la semillas que contenía la PE mostraba mayor porcentaje de proteína cruda de un 4 a 6 %, y contenidos mayores de lisina (21.3 % a 34 %) por cada 100g de proteína. El porcentaje de incremento en el contenido de aceite fue de 3.5 a 13.6%, es decir de 5.07 a 5.25 ó de 4.97 a 5.65 g por 100 g de materia seca.

En el caso particular de los maíces PE generados por el IMM-UAAAN se han observado una serie de datos que señalan la influencia de este mutante en los contenidos de aceites y los aminoácidos lisina y triptófano. El planteamiento central es que si una alta proporción de cariopsis en esas poblaciones son de naturaleza PE, los granos contendrán dos o más embriones y por lo tanto, mayor contenido de aceite y proteína embrionaria, a más de los contenidos en el resto del grano.

La experimentación aplicada con este propósito sigue dos estrategias, la primera compara los contenidos de grasa y proteína cruda en generaciones distanciadas, de 1994 a 2003; la segunda, utiliza la estrategia de combinar germoplasma de PE y el de una fuente especializada de alto contenido de aceite. Los resultados generales de la primera indicaron que a medida que se incrementa la frecuencia de PE, se aumentan los contenidos de grasa cruda (GC), pasando de 5 a 6 %, la proporción de GC en el maíz común utilizado como testigo fue de 4.5 a 5 % (Espinoza *et al.*, 2003). Una medida adicional fue la relativa a contenidos de los ácidos grasos oleico (OL) y linoleico (LN) en estos grupos de frecuencia PE diferente, concluyendo que al igual del cambio en GC, la proporción de OL y LN se incrementó en 35 a 40 % en los grupos de mayor PE (Valdéz, 2005).

La experimentación aplicada por la vía de la segunda estrategia, la combinación de germoplasma PE del IMM-UAAAN con el de alto contenido de aceite (Tuxpeño HOC, generado por CIMMYT), indicó que proporciones de 50% PE: 50% HOC son las combinaciones óptimas para un contenido de GC de 6.5 a 7g por 100 g de materia seca, es decir 30 a 40 % superior al maíz común, y con la probabilidad de recuperar la poliembrionía de manera segura en F₂, y recombinar hasta F₃, lo que permite generar grupos genotípicos con mejores características agronómicas, poliembriónicas y de mayor contenido de aceites, de utilidad como base para generar nuevas variedades de maíz especializadas (González, *et al.*, 2011).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área de estudio

El presente trabajo de investigación se realizó en el invernadero número 3, ubicado a un costado del Departamento de Fisiología Vegetal de la Universidad Autónoma Agraria Antonia Narro en Buenavista, Saltillo, Coahuila. Las coordenadas geográficas del lugar son 25° 21´ de latitud N y 101° 02´ de Longitud Oeste, y 1756 de altitud (CETENAL, 1975).

El invernadero tiene una dimensión de 9 x 32 x 4 m y cuenta con una cubierta de polietileno y a sus lados malla anti áfidos, cortinas plegables, termómetro para identificar temperaturas máximas y mínimas. El riego al interior es manual, vía regadera.

Material genético

El germoplasma utilizado incluye una muestra aleatoria de la población IMM-UAAAN-BAP, braquítica de alta poliembrionía; dos familias de medio hermanos, una de BAP y otra de NAP (porte normal, alta frecuencia poliembriónica), incluidas como referentes de la poliembrionía; seis líneas de alta endogamia, que son exóticas a los materiales poliembriónicos y que representan versiones de maíz común, grano blanco, cinco de ellas son material generados por el IMM-UAAAN y otra que proviene del CIMMYT; además, se utilizó como testigo, al híbrido comercial AN-447, que junto a las seis líneas endogámicas, son genotipos representativos del maíz común, sin el mutante poliembrionía. Como referencia para la expresión de la PE se utilizó a la población IMM-UAAAN-BAP.

Las seis líneas y las dos familias se cruzaron con la población BAP, generando F₁ directas y recíprocas. A partir de éstas, se manejaron

reproductivamente de modo tal que generaron la F₂ y Retrocruzas Uno (RC₁), que son los genotipos que fueron materia de este trabajo (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1. Genotipos utilizados.

Genotipos	Identificación	Genealogía
Genotipo de referencia PE	A	Población BAP
	B	(BAP x AN-255-18-19)F ₂
Filiales F ₂ Directa	D	(BAP x AN-7)F ₂
	G	(BAP x AN-CS8)F ₂
	H	(BAP x AN-Tep-3)F ₂
	L	(AN-255-18-19 x BAP)F ₂
Filiales F ₂ Recíproca	P	(AN-Tep-2 x BAP)F ₂
	Q	(BAP x AN-255-18-19)F ₁ x BAP
Retrocruzas Directas (RC ₁)	R	(BAP x CML-78)F ₁ x BAP
	S	(BAP x AN-7)F ₁ x BAP
	W	(BAP x AN-Tep-3) x BAP
Familias Poliembriónicas (PE)	F	(BAP x D-F ₄₀ (PE))F ₂
	I	(BAP x C-F ₉₀ (PE))F ₂
	U	[(BAP x D-F ₄₀ (PE)) x BAP]RC ₁
Testigo No-PE	X	[(BAP x C-F ₉₀ (PE)) x BAP]RC ₁
	Y	Híbrido AN- 447

CML-78 es línea endogámica CIMMYT; líneas IMM-UAAAN, las iniciadas como AN; C-F90 y D-F40 son familias de medios hermanos, poliembriónicas del IMM-UAAAN; BAP, es el nombre corto de la población IMM-UAAAN-BAP

Como puede apreciarse en el Cuadro 3.1, las cruzas originales fueron entre BAP con líneas endogámicas y familias PE, generando genotipos diversos F₁. A partir de éstos, se procedió a generar las F₂, directas y recíprocas, y las cruzas de prueba (retrocruzas RC₁), sólo directas. Es claro que las cruzas donde participaron BAP y las familias PE de medios hermanos (C-F₉₀ y D-F₄₀) sean F₂ ó RC₁, se expresan como grupos PE, ya que sus progenitores originales corresponden a genotipos poliembriónicos.

Establecimiento de los materiales en invernadero

Figura 3.1. Esquema de siembra.



- Utilizando como sustrato, suelo de bosque y peat moss, mezclados en proporciones de 60:40 v/v.
- Se utilizaron como macetas, botes de leche reciclados con una capacidad de 1.8 litros, cortándolos en forma transversal, quedando con una capacidad de 800 gramos, se le hicieron 4 agujeros en la parte inferior para que pasara el agua y hubiera un buen drenaje, y evitar de esta forma que pudiera causarse alguna enfermedad por exceso de humedad.
- Se procedió a tomar una muestra aleatoria de las semillas, utilizando 30 semillas por cada una de las tres (3) repeticiones de cada material.
- La forma en que se sembró, fue de la siguiente, utilizando 2 semillas por bote, quedando separadas las semillas en forma diagonal, con una distancia aproximadamente de 4 cm entre semillas, utilizando 15 botes por genotipo-repetición.
- La siembra se realizó el 16 de Mayo del 2012.

- Los riegos fueron continuos desde el inicio de la siembra, hasta la evaluación de la plántula (por 14 días).
- No hubo fertilización, ni control químico de malezas ni de insectos.
- Se llevó un registro de temperaturas diarias, con un termómetro de máximas y mínimas.

Diseño experimental y análisis estadístico

El establecimiento experimental de los genotipos se llevó a cabo utilizando un diseño completamente al azar, tres repeticiones. Los datos se analizaron a través de un Análisis de Varianza correspondiente al diseño para determinar diferencias entre genotipos para las diferentes variables de estudio. Cuando procedió, se aplicó una prueba de medias (Tukey, $\alpha = 0.05$). También, en los casos de la agrupación de genotipos por la condición de F_2 ó RC_1 , se procedió a aplicar una prueba de Ji Cuadrada del tipo bondad de ajuste (goodness of fit) para probar hipótesis de segregación de acuerdo al modelo de herencia de la poliembrionía bajo estudio, propuesto por Rebolloza *et al.* (2011).

El modelo estadístico correspondiente al diseño Completamente al azar es como sigue (Steel y Torrie, 1998):

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = variable observada en la j-ésima repetición del i -ésimo tratamiento; μ = efecto de la media general; T_i = efecto del i -ésimo tratamiento; y E_{ij} = ij -ésimo error experimental.

Los Análisis de varianza y pruebas de medias se realizaron utilizando el paquete estadístico SAS, Versión 9.0 (SAS, 2002).

Variables de estudio

1. Características de interés general en el estudio

Figura 3.2. Planta poliembriónica.



- **Porcentaje de Germinación (PG);** número de semillas que hayan producido plántula, aun aquellos casos con apariencia de anormales, expresada en por ciento. Se procedió a contar el número de plántulas emergidas en las 15 macetas en por cada repetición.
- **Por ciento de plántulas poliembriónicas (PPE);** la proporción de casos con 2 ó más plúmulas de conformación normal aparente, referida al total de granos germinados, expresado en porcentaje.

- **Por ciento de Plántulas Anormales (PA)**; proporción de casos que presentan deficiencias en el desarrollo de sus estructuras esenciales, defectos que limitan crecimiento y desarrollo de la(s) plúmula(s).

2. Características anatómicas de las plántulas

La medición de estas variables se tomó una vez que se registraron los datos de las variables descritas en el punto 1. En los genotipos referentes a las familias PE, de cada parcela y repetición se tomaron 12 plántulas dobles y hasta 12 plántulas individuales (No-PE). En el resto de los genotipos, fueran F_2 o RC_1 , se tomaron todas las plántulas PE y 12 plántulas individuales, de cada parcela y cada repetición.

Figura 3.3. Ejemplo en la medición de características agronómica en la planta de maíz.



La extracción de plántulas fue practicada de manera cuidadosa para mantener la integridad tanto de plúmula(s) como del Sistema Radical Seminal,

cabe señalar que hubo casos donde no se completó el número deseado de plántulas PE por que la proporción de los casos mutantes se redujo en alguna medida o como en el caso del híbrido AN-447, donde por su naturaleza normal, no se presentan casos de plántulas PE, es decir, todas ellas son No-PE.

Una vez extraídas las plántulas, previos a la toma de medidas, se conservaban húmedas en un recipiente plástico con agua, del mismo tipo que las utilizadas como macetas, pero de mayor capacidad (un galón).

Del conjunto de plántulas, fueran del tipo PE o del tipo No-PE, de las tres repeticiones de un genotipo particular, se conformaron dos grupos, representando de este modo dos repeticiones, en vez de tres. Las plántulas de cada repetición se dispusieron sobre hojas completas de papel periódico humedecidas para preservarlas en tanto se practicaban las mediciones de las variables de interés, las cuales se describen a continuación.

- **Número de hojas verdaderas (NH);** es la cantidad de hojas completamente desarrolladas que presenta la plántula; el dato incluye solamente laminas foliares cuya base tiene después de la vaina, la señal denominada “collar”, que señala el desarrollo de hoja completa.
- **Número de coleóptilo (NC);** cantidad de estructuras coleoptilares, que son el tejido especializado que envuelve a la primera hoja y auxilia la emergencia de la plántula sobre el suelo; en casos de PE, esta estructura puede aparecer en número variable, de una a más, asociado de algún modo al número de plántulas emergidas por semilla.
- **Número de raíces nodulares (RN);** es la suma de apéndices raíz que aparecen después de que se establece el sistema radical seminal (radícula mas raíces laterales) en la(s) plántula(s); a las raíces nodulares también se conocen como “raíces de corona” por que emergen del cuello o nudo vital (corona) que delimita la unión tallo-raíces, en la parte distal del mesocotilo.

- **Longitud de radícula (LR);** medida de la extensión de este órgano desde el escutelo hasta la punta, registrada en centímetros.
- **Longitud de tallo (LT);** medida en centímetros de la parte aérea (verde) desde el cuello de la plántula (región nodular) hasta el cogollo, sin tomar en cuenta la punta de las hojas en desarrollo que se aprecian en el ápice de crecimiento.
- **Peso de planta completa (PPC);** medida expresado en gramos (mas decigramos) de la(s) plántula(s) completa(s), utilizando una báscula digital.
- **Peso del Sistema Radical Seminal (PRS);** medida en gramos (mas decigramos) de las tres estructuras raíz (radícula, raíces laterales y de corona) las cuales se desprenden del resto de la(s) plántula(s).
- **Peso de tallo (PT);** medida en gramos (mas decigramos) de la estructura aérea fotosintética que se desprende al separar de la(s) plántula(s) las estructuras raíz.

Por otra parte, para corroborar el mecanismo de herencia que controla la PE estudiada en este trabajo, se aplicaron pruebas de ji-cuadrada, del tipo bondad de ajuste (goodness of fit); las hipótesis de segregación comprobadas en este trabajo fueron: Para segregación en F_2 , H_0 : 15 : 1 (normales: poliembriónicas), que al detalle significa que la clase normales los dos o al menos uno de los dos genes está en condición dominante, mientras que el fenotipo PE se logra cuando los dos loci están en condición homocigótica recesiva. Para los casos de RC_1 (Cruza de prueba) se establece la hipótesis de H_0 : 12:4, clases en el mismo orden (Rebolloza *et al.*, 2011).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos obtenidos en este trabajo, así como los análisis estadísticos aplicados, se presentan en dos secciones, la primera describe el comportamiento de las variables de interés general y las diferencias detectadas entre genotipos de cada grupo segregante; la segunda, presenta los resultados de variables que miden las características anatómicas de plántulas de los diferentes genotipos en los mismos grupos segregantes.

1. Variables generales: germinación y anomalías de plántula

Es conveniente subrayar que los datos y resultados de esta investigación se basan en grupos segregantes de maíz, originados a partir de una serie de cruzamientos entre plantas de la población denominada “IMM-UA-BAP”, la cual es genéticamente braquítica o enana, y de alta frecuencia poliembriónica (PE), con maíces de seis líneas endogámicas genéticamente ajenas a BAP, es decir las líneas son completamente normales, No-PE, exóticas a la población, y con dos Familias de PE, que son grupos de medios hermanos (MH), una de porte alto y otra de porte enano, ambas con la característica de alta PE, que aunque de naturaleza semejante a BAP no están directamente emparentadas con ella.

Las F_1 , directas o recíprocas, de todos los cruzamientos BAP x Línea endogámica resultaron en progenies No-PE, en contraposición a las de BAP x Familia PE, quienes presentaron proporciones del mutante similares a las de BAP. A partir de las F_1 se procedió a generar las F_2 y RC_1 (Retrocruzas uno, o cruza de prueba) con dos propósitos, 1) validar la propuesta de herencia de este tipo de poliembriónía, y 2) ponderar las posibilidades de recuperar la poliembriónía segregante, esto con la finalidad de proyectar aplicaciones de PE en el diseño de combinaciones germoplásmicas hacia la formación de variedades de maíz especializadas en calidad nutricional del grano, característica asociada a la alta frecuencia de PE. En el diseño de estas variedades, las semillas germinarían en

dos o más plantas (semilla prolífica), capaces de generara mazorcas, aumentando la capacidad de producción de materia seca, ahorro en el número de semillas por unidad de superficie a la siembra, y con potencial de altos rendimientos.

Los valores promedio de las variables: porcentajes de germinación (PG), poliembrionía (PPE) y anormalidades (PA) en plántula aparecen en Cuadro 4.1. Como puede apreciarse, los datos se agrupan de acuerdo a la modalidad de cruzamiento (filial o retrocruza) o por su naturaleza genotípica, como son las familias MH de naturaleza PE, o los genotipos testigo, como son la población BAP utilizada como referencia para alta frecuencia PE, o el híbrido tri-lineal comercial AN-447, como prototipo del maíz común, No-PE.

Cruzas F₂ Directas, Recíprocas y Retrocruzas (RC₁)

Los materiales genotípicos observados en esta sección fueron como sigue: cuatro, y dos grupos F₂, provenientes de F₁ directas y F₁ recíprocas, respectivamente (Cuadro 4.1). En todos los casos, las proporciones de germinación (PG) fueron superiores a 85 %, valor que es la medida comercial de las semillas envasadas para siembra; de hecho, la germinación fue superior a 95 % en todo genotipo, lo cual se exhibe como una característica positiva de los grupos segregantes. Nótese que la variación observada es baja (Desviación Estándar, $DE \leq 4 \%$) por lo que se puede establecer que los genotipos presentaron una germinación homogénea.

En cuanto a la característica plántulas anormales (PA) de los mismos grupos señalados en el párrafo anterior, la proporción fue inferior a 4 %, la cual es considerada como baja al compararse con la de familias poliembriónicas. Las deformaciones más frecuentes en estos genotipos fueron la de plántulas raquílicas o deformaciones con apariencia “arrepollada”, condición asociada a casos de plántulas múltiples por semilla germinada (Figura 4.2). De cualquier forma, la baja frecuencia de anormalidades es una característica positiva en la segregación de estos genotipos, tomando en cuenta que poseen 50 % de germoplasma BAP, la

cual presenta regularmente proporciones de 5 a 12 % de anomalías. La variación observada, medida a través de el valor de una DE, en esta característica es estadísticamente alta, superior al 20 % del valor de la media, considerado como el nivel máximo deseable de una relación independiente entre la media y la desviación estándar. La ocurrencia de anomalías en plántula es una variable que no exhibe distribución normal, por lo que sus estadísticos básicos generalmente presentan valores discordantes con lo esperado para variables típicamente “normalizadas”.

Figura 4.1. Planto con Anormalidades.



El por ciento de poliembrionía (PPE) en los diversos grupos genotípicos F_2 es, en lo general, conforme a lo esperado si se sigue el patrón de herencia propuesto por Rebolloza *et al.* (2011) la cual involucra además el fenómeno de “penetrancia incompleta (P-i)” asociado al carácter PE, cuya manifestación está influenciada por el fondo germoplásmico en que se encuentre la poliembrionía. Como puede apreciarse (Cuadros 4.1 y 4.2) la PE se ajustó a la proporción esperada de 15:1 (15/16 de plantas tipo normal, es a 1/16 del tipo poliembriónico) con diversas manifestaciones de P-i. Estos resultados son también acordes a lo señalado por Espinoza *et al.* (2008), quienes plantearon por primera vez el modelo de herencia y la penetrancia incompleta en este tipo de PE en maíz, presentado posteriormente de manera explícita en la publicación de Rebolloza *et al.* (2011).

El método estadístico aplicado para probar la segregación de la PE en los diversos genotipos fue la Ji cuadrada del tipo “bondad de ajuste” (goodness of fit), excepción hecha para los genotipos testigo, que no requieren prueba alguna ya que “Y” es maíz normal No-PE, y “A” es la población BAP que fue la referencia para observar al mutante PE en los genotipos derivados de los cruzamientos.

Cuadro 4.1. Valores promedio de las variables[‡] de interés general de los cuatro grupos genotípicos y poblaciones de referencia.

<i>Genotipos</i>	<i>PG</i>	<i>PPE</i>	<i>PA</i>
F ₂ (cruzas directas)			
<i>B</i>	97.8 ± 2	8 ± 9	1.1 ± 2
<i>D</i>	100	3.3 ± 5	3.3 ± 3
<i>G</i>	96.7 ± 3	4.6 ± 2	2.3 ± 2
<i>H</i>	97.8 ± 4	3.5 ± 4	2.2 ± 4
F ₂ (cruza recíproca)			
<i>L</i>	98.9 ± 2	6.7 ± 6	0
<i>P</i>	98.9 ± 2	9 ± 4	2.3 ± 2
Retrocruzas (RC ₁)			
<i>Q</i>	98.9 ± 2	26.9 ± 9	1.1 ± 2
<i>R</i>	98.9 ± 2	30.5 ± 13	6.7 ± 7
<i>S</i>	96.7 ± 3	20.8 ± 7	3.4 ± 3
<i>W</i>	100	12.2 ± 4	4.4 ± 5
Familias Poliembriónicas			
<i>F</i>	96.7 ± 3	58.7 ± 6	9 ± 13
<i>I</i>	100	66.7 ± 9	1.1 ± 2
<i>U</i>	96.7 ± 1	74.7 ± 2	3.4 ± 1
<i>X</i>	98.9 ± 2	75.4 ± 7	2.2 ± 4
Poblaciones de referencia (A) y Testigo (Y)			
<i>A</i>	86.7 ± 14	72.6 ± 5	4 ± 4
<i>Y</i>	98.9 ± 2	0	0

[‡]PG, PPE, PA= porcentajes de: germinación, poliembriónía, y anormales. Las poblaciones de referencia son: BAP denominada como "A" y AN-447, denominada como "Y".

Las proporciones segregantes F₂, directas y recíprocas, así como a los genotipos evaluados como cruzas de prueba (RC₁) fueron como sigue: en F₂, la Hipótesis a probar es una segregación de 15:1 en cuanto a las proporciones de plantas normales y plantas poliembriónicas, mientras que para las RC₁, la Ho es: 12:4, de las mismas clases fenotípicas. Como se estableció al describir los

métodos, cada genotipo se representó por una muestra aleatoria de 90 semillas, distribuidas en tres repeticiones de 30. Los datos para las pruebas de Ji cuadrada se refieren al total de casos germinados, expresados en las dos clases fenotípicas.

Con excepción del genotipo W (RC_1), en todos los casos, y a pesar de algunas diferencias nominales en los datos para los genotipos, las pruebas arrojaron valores de Ji cuadrada superiores a los valores críticos, por lo que las hipótesis de segregación no fueron rechazadas, y se puede establecer que la segregación es acorde al control de dos loci con interacción epistática recesiva duplicada (Rebolloza *et al.*, 2011), por lo que la clase fenotípica PE se debe a la acción de los dos genes en homocigosis recesiva, con algunas manifestaciones de penetrancia incompleta (P-i), la cual fue más drástica en el genotipo R, (RC_1).

Como se desprende de las pruebas de hipótesis (Cuadro 4.2), se presentaron varias situaciones donde la Probabilidad fue (> 0.50) lo cual puede considerarse como un indicador de afinidad alta entre los germoplasmas que originaron las series $F_1 - F_2$ y $F_1 - RC_1$. Por el contrario, en donde los valores de P fueron bajos ($P \leq .20$) pudieran tomarse como casos donde se presenta cierto grado de obstrucción en la expresión de PE por influencia del germoplasma exótico en cruzamiento con BAP.

El caso del genotipo W (RC_1), es singular ya que la $H_0: 12:4$ fue rechazada (Cuadro 4.2). De la proporción de PE esperada (25 %) sólo se detectó cerca del 13 %. El bajo número observado de individuos PE pudo deberse a dos situaciones, la primera es por efectos de muestreo por el bajo número de semillas utilizadas, y la otra, por efecto de la P-i, como ya fue señalado en este tipo de segregaciones (Rebolloza *et al.*, 2011). Si se observa el Cuadro 3.1 del capítulo anterior, se puede observar que dos de las líneas endogámicas (AN-Tep-3 de la Narro, y CML-78 de CIMMYT) en combinación con BAP generaron a los genotipos segregantes que se alejaron notablemente de las proporciones esperadas, es decir, esta fueron las fuentes que presentaron en mayor o menor medida la obstrucción a la expresión de la PE. Los resultados de este trabajo son una

evidencia más del fenómeno de penetrancia incompleta, asociada a la PE de los maíces del IMM-UAAAN.

Cuadro 4.2. Pruebas de Ji cuadrada a los genotipos segregantes F₂ Directa, Recíproca y Retrocruzadas RC₁.

Genotipos	Observado (O)		Esperado (E)		(O-E) ² /E		χ ² Calculada	Probabilidad
	Normal	PE	Normal	PE	Normal	PE		
F ₂ (cruzas directas)								
B	80	7	81.6	5.4	0.03	0.45	0.47	>.50
D	84	3	81.6	5.4	0.07	1.09	1.17	>.20
G	81	4	79.7	5.3	0.02	0.32	0.35	>.50
H	83	3	80.6	5.4	0.07	1.05	1.12	>.20
F ₂ (cruzas recíprocas)								
L	79	8	81.6	5.4	0.08	1.21	1.29	>.20
P	83	6	83.4	5.6	0.002	0.03	0.04	>.80
Retrocruzadas (RC ₁)								
Q	64	24	66	22	0.06	0.18	0.24	>.50
R	56	27	62.2	20.7	0.63	1.88	2.51	>.10
S	66	18	63	21	0.14	0.43	0.57	>.50
W	75	11	64.5	21.5	1.71	5.13	6.84	<.01

Hipótesis de 15:1 en F₂ (directa y recíproca) y 12:4 (en RC₁), con un gl en cada uno de los genotipos.

Los resultados validan el hecho de que tanto las cruzas directas como recíprocas segregan de manera semejante por lo que no se detectan efectos recíprocos, de acuerdo a lo propuesto por Musito *et al.* (2008) quienes trabajaron con familias de poblaciones de maíz que contienen este mismo tipo de poliembrionía. Sin embargo, los datos de este trabajo dan pie a proponer que el grado de obstrucción por la P-i pudiera estar influenciado por la dirección de cruzamiento, lo cual puede ser materia de estudio, con tamaños de muestra más grandes que los utilizados aquí, si se quiere minimizar el posible efecto de muestreo.

Los genotipos denominados Familias PE no están incluidos en el Cuadro 4.2 ya que no están sujetas a una hipótesis específica para la segregación de la PE, y por su naturaleza, pueden presentar una proporción del mutante semejante al del genotipo de referencia (BAP). Una prueba estadística adecuada a este tipo de relación puede ser a través de un ANVA donde proceda una prueba de medias, como la Tukey, $\alpha = 0.05$, 1 g. l.

La variación observada en los casos PE de las seis progenies F_2 discutidas en esta sección (Cuadro 4.1), medida a través de la desviación estándar (DE) de los datos de cada promedio, es amplia y errática como corresponde a una variable de naturaleza discreta, susceptible a efectos de muestreo. Aquí no se prueba la normalidad de los datos sino el patrón de herencia simple mendeliana a que está sujeta este tipo de poliembrionía, por lo que no debe sorprender los altos valores de la DE. Es pertinente reiterar que la experimentación aplicada en este trabajo incluyó parcelas de 30 semillas en cada una de las tres repeticiones por lo que el valor de la DE como estadístico descriptivo se calculó a través de repeticiones.

Los resultados del análisis genético aplicado a estos datos confirman la naturaleza heredable de la PE presente en los maíces IMM-UAAAN, la cual es controlada por un sistema de dos loci en interacción epistática del tipo recesivo duplicado, es de decir que la segregación en F_2 y en RC_1 es de dos clases (plantas normales: plantas múltiples por semilla o plantas poliembriónicas) en proporción 15:1 y 12:4, respectivamente, cuya penetrancia puede ser incompleta en función del fondo germoplásmico donde se inserte. En este sentido, habrá combinaciones de germoplasma de maíz común que al combinarse por cruzamiento con poblaciones seleccionadas para alta frecuencia poliembriónica (e. g. las poblaciones BAP o NAP del IMM-UAAAN) pudieran limitar en alguna medida la expresión de la PE en las progenies segregantes, alterando las proporciones esperadas en F_2 o RC_1 . Los resultados obtenidos en este trabajo concuerdan puntualmente con los postulados por Espinoza *et al.* (2008) y Rebolloza *et al.* (2011).

Enanismo. El uso de mutantes braquíticos de maíz, particularmente el causado por la condición homocigota del gen braquítico-Dos ($br_2 br_2$), ha sido utilizado como una variante de interés en el mejoramiento genético (Castro, 1973; Pilu *et al.*, 2007). El IMM-UAAAN ha utilizado a este mutante en el diseño de variedades de maíz, de hecho, algunos de sus híbridos más exitosos en México llevan incluido al menos una línea enana de este tipo (José Espinoza Velázquez, comunicación personal). La población BAP utilizada en este trabajo contiene el gen mutante br_2 , completamente recesivo al alelo normal del maíz común.

La segregación relativa al fenómeno de enanismo presente en la población poliembriónica IMM-UAAAN-BAP, fue confirmada en los grupos segregantes, los cuales presentaron siempre dos clases fenotípicas, normal: enano, en proporciones de 3:1 para los casos de F_2 , y de 1:1 en los de RC_1 . De este modo se confirma que el enanismo o condición braquítica presente en BAP está dado por un gen en homocigosis recesiva, simbolizado por ($br_2 br_2$). De este modo, la representación del alelo normal o silvestre del maíz común es Br_2 . En esta investigación la cruce directa o recíproca entre BAP x cualquier genotipo de maíz común, como las líneas endogámicas utilizadas en este trabajo, generan una progenie F_1 constituida en su totalidad por plantas de altura normal, la F_2 exhibe progenies de 75 % de tipo normal y 25 % de tipo enana, y de 50 % de cada clase en RC_1 (Cuadro 4.3).

El resumen de los análisis de varianza aplicados a los grupos F_2 , directas y recíprocas, así como a los RC_1 , en las variables PG y PA, se consignan en el Cuadro 4.4. Los datos permiten destacar que la germinación de invernadero en todos los genotipos fue buena y prácticamente igual ($P > 0.05$), que la proporción de anomalías (PA) fue baja, sin diferencias entre genotipos. Las calificaciones de “buena germinación” y “bajas proporción de anomalías” es adecuada si se comparan con los valores promedios generalmente observables en genotipos directamente PE. Nótese también que la proporción de varianza explicada por el modelo (R^2) es muy inferior a 50 % en la mayoría de los análisis, y el coeficiente de variación (CV) para la variable PA está fuera de un estadístico adecuado. Es

claro que las variables no pueden considerarse como de distribución normal y que el tamaño de la muestra en cada genotipo fue pequeño. La PA es una variable difícil de interpretar y su ocurrencia tiene un comportamiento errático, en ocasiones asociado a los genotipos PE. Bajo estas condiciones, la técnica de ANVA en estos casos es poco informativa.

Cuadro 4.3. Pruebas de Ji cuadrada para los genotipos segregantes “porte normal: porte enano”.

Material	Observado (O)		Esperado (E)		(O-E) ² /E		X ² Calculada	Probabilidad
	Normal	Enano	Normal	Enano	Normal	Enano		
Cruzas F ₂ directas								
D	69	18	65	22	0.25	0.73	0.98	>.50
G	62	23	64	21	0.06	0.19	0.25	>.50
H	60	26	64.5	21.5	0.31	0.94	1.25	>.30
Cruzas F ₂ recíproca								
P	68	21	67	22	0.02	0.04	0.06	>.90
Retrocruzas (RC ₁)								
R	45	38	41.5	41.5	0.29	0.29	0.58	>.50
S	44	40	42	42	0.09	0.09	1.24	>.30
W	44	42	43	43	0.02	0.02	0.04	>.90

Con un gl en cada uno de los genotipos, los genotipos “B”, “L” y “Q” no se incluyen por que su expresión es 100% de enanismo.

Cuadro 4.4. Análisis de varianza de las grupos de cruzas F₂ para las dos variables[‡] de interés general.

VARIABLE	GI	SC	CM	CM Error	Prueba de F	C.V	R ² (%)	Media Gen
PG	3	17.6	5.8	59.6	0.79	2.8	22	98.1
	1	0	0	14.5	0	1.4	0	98.9
	3	17.6	5.8	36.9	1.27	2.2	32	98.6
	3	24.8	8.3	29.7	2.22	1.9	45	98.6
PA	3	7.28	2.4	45.1	0.49	106.4	13	2.2
	1	7.48	7.48	7.48	4	122.5	49	1.1
	3	47.5	15.8	171.9	0.74	118.6	22	3.9
	3	109.6	36.5	351.8	0.83	168.9	24	3.9

[‡] PG = Porcentaje de germinación, PA = Porcentaje de anomalías en plántulas. En el cuerpo del Cuadro, los datos de la primera fila corresponden a F₂ directa, la segunda a F₂ recíproca, la tercera a las Retrocruzas y la cuarta a las familias altamente PE.

La poliembriónía (PE) en poblaciones de maíz es por años uno más de los fenómenos estudiados en el Instituto Mexicano del Maíz de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (IMM-UAAAN). La frecuencia del mutante en las dos poblaciones especializadas (IMM-UAAAN-BAP y -NAP) ha aumentado a proporciones promedio de 58 a 70 %. En la actualidad también se cuenta con nuevos grupos genotípicos que incluyen PE en combinación con otras características de valor agronómico, y que representan una base más amplia en el propósito de derivar variedades especializadas de maíz, rendidoras y con calidad nutrimental.

De los cuatro grupos F₂ cruzas directas, el denominado “D” (Cuadro 4.1) es el que presentó el menor valor de PE, mientras que el genotipo “B” resultó ser el de mayor proporción, aunque sin discrepar estadísticamente con lo esperado, como puede corroborarse con las pruebas de Ji cuadrada (Cuadro 4.2).

Dicho de otra forma, en las combinaciones germoplásmicas de BAP con fuentes exóticas a ella, genéticamente distantes, habrá casos donde la dosis 50:50 de combinación germoplásmica obtenida en el cruzamiento y que pasan por procesos de recombinación sucesiva, sea F₂ ò F₃, habrá efectos germoplásmicos

que obstruyan en algún grado la expresión de la PE, aún cuando los genes de ésta estuvieran presentes. Esto es una consecuencia de la “penetrancia incompleta” que está asociada al mutante; cabe aclarar que esta desviación ocurre sólo en determinados casos, en función de la naturaleza del material exótico. Los resultados en este trabajo son coincidentes con lo planteado por Rebolloza *et al.* (2011). Tanto los grupos F₂ de cruzas directas como recíprocas presentaron los niveles de segregación adecuados en cuanto a la poliembrionía ya que no fue rechazado ningún genotipo en la prueba de ji cuadrada (Cuadro 4.2).

Por otra parte, al referirse a las Familias de alta frecuencia poliembriónica se postuló que por el grado de PE que presentan, no se requiere someterles a prueba alguna, y que un análisis de varianza pudiera dilucidar si segregan la PE al nivel que lo hace BAP, que es la población de referencia de estas Familias. El Cuadro 4.5 concentra dos ANVA para este grupo de genotipos, uno se refiere sólo a la comparación entre las Familias, y en el segundo, se agrega a BAP en la comparación. En los dos tipos de análisis se detectan diferencias estadísticas ($P < 0.05$), indicando que al menos una de las familias es estadísticamente superior en frecuencia PE. Conviene señalar que los estadísticos (F calculada, CV, R²) del análisis reflejan una experimentación adecuada.

Cuadro 4.5. Análisis de varianza en familias de alta frecuencia poliembriónica, variable PE.

Estadístico	Sólo Familias PE	Familias PE mas BAP
GI	3	4
SC	558.7	591.3
CM	328.9	147.8
CM Error	186.2	380.3
Prueba de F	4.53 *	3.89 *
C.V	9.31	8.86
R ² (%)	62	60
Media Gen	68.8	69.6

Dos análisis de varianza para las familias altamente poliembriónicas, sin incluir a BAP o incluyéndola.

La prueba de medias (Tukey, $\alpha = 0.05$) se presenta en el Cuadro 4.6. En función de los estadísticos aplicables a la prueba, la diferencia mínima significativa (DMS) es de 16.76, y de acuerdo a las medias de los 4 genotipos y de BAP, no existe ninguna verdadera diferencia entre ellas, lo que permite señalar que la frecuencia de la poliembrionía en los grupos se ubica entre los 59 a 75 % sin diferencias estadísticas verdaderas.

Cuadro 4.6. Análisis de varianza en familias de alta frecuencia poliembriónica, variable PE.

Sólo Familias PE PE	Familias PE mas BAP PE
X 75.36 a	X 75.36 a
U 74.73 a	U 74.73 ab
I 66.66 a	A 72.53 ab
F 58.63 a	I 66.66 ab
	F 58.63 b
DMS 16.76	DMS 16.57

Dos comparaciones de medias para las familias altamente poliembriónicas, incluyendo a BAP y excluyendola.

2. Características de plántulas y mediciones de peso y longitud

Esta sección es la segunda batería experimental del trabajo de tesis. Una vez que se calificó a cada genotipo por sus características de germinación y poliembrionía, el conjunto de plántulas presentes en las tres repeticiones de cada genotipo se separaron en dos subconjuntos, uno constituido por plántulas de condición PE, y el otro por plántulas individuales (No-PE). Del subconjunto PE se integraron dos repeticiones de 12 plántulas cada uno; de igual manera se procedió con el subconjunto No-PE. Estas repeticiones fueron utilizadas para las mediciones de diferentes características anatómicas de las plántulas.

F₂ cruzas directas y recíprocas

Las variables de plántulas evaluadas en este trabajo son tipificables en dos grupos, el primero describe al número de estructuras básicas de las plántulas a los 14 días de edad, como son el coleóptilo, el número de hojas completas, y el sistema radical seminal, que se compone por la radícula y las raíces laterales, así como el inicio de las raíces de corona, las cuales constituirán el sistema radical definitivo de la planta. El segundo grupo de variables se refiere a las medidas de longitud y peso de radícula y de la parte aérea (aquí se denomina “tallo”) en plántula. En el Cuadro 4.7 se presentan las medias generales de las ocho variables determinadas en este trabajo. Como puede apreciarse, para cada grupo se presentan los datos correspondientes a los genotipos en su versión PE y No-PE, señalados estos últimos como I (I de “plántulas individuales”).

De manera natural, un grano de maíz al germinar presenta un coleóptilo (estructura coriácea que envuelve a la plúmula al momento de germinar) y una radícula (estructura con función raíz, que es el primer órgano visible al momento de la germinación del grano). Sin embargo, los granos de condición PE presentan de manera ocasional dos o más de estas estructuras, de hecho, se tiene calculado que la condición de radículas múltiples se puede presentar en 10 a 14 % de los casos de plántulas PE (Espinoza *et al.*, 2012) mientras que el número de dos o más coleóptilos varía de 6 a 8 % (Espinoza, datos sin publicar). En este trabajo, las variables de número (NC y NH) indican que hay una proporción baja ($\approx 3\%$) de coleóptilos dobles en los grupos segregantes PE, aunque en la población de referencia BAP la frecuencia de coleóptilos múltiples fue de 16.7 %.

Cuadro 4.7. Valores promedio de las variables de plántula en los grupos F₂, directas y recíprocas y genotipos testigo y de referencia.

Genotipos	NC	RC	LT	LR	PPC	PT	PR	NH
F ₂ (cruzas directas)								
<i>B PE</i>	1	3.3 ± 1	21.7 ± 1	33.3 ± 8	5.3 ± 1	3.4	2 ± 1	4.2
<i>D PE</i>	1	5.5 ± 1	25.8 ± 7	38 ± 11	6.4 ± .4	4 ± .2	2.5 ± .3	4.5 ± 1
<i>G PE</i>	1.5	4 ± 3	16.5 ± 13	32.3 ± 2	3 ± 2	1.6 ± 1	1.4 ± 1	3.5 ± 1
<i>H PE</i>	1	4.5 ± 1	35 ± 1	18.8 ± 2	5.6 ± 1	3.2 ± 1	2.4 ± .2	4
<i>BI</i>	1	3.8 ± 1	15.1 ± 1	35.3 ± 7	6.4 ± 1	3.5 ± .5	2.9 ± 1	2.7 ± .1
<i>DI</i>	1	5.1 ± 1	22.2 ± 1	30.1 ± .3	6.8 ± .2	3.9 ± .2	3 ± .1	2 ± .1
<i>GI</i>	1	5.6 ± .1	17.8 ± 2	29.3 ± .1	5.3 ± .3	3.1 ± .1	2.4 ± .2	2.8 .1
<i>HI</i>	1	5.4 ± .1	21.7 ± 2	27.1 ± 3	5.6 ± .1	3.2 ± .1	2.45 ± .1	2.6 ± .1
F ₂ (cruzas recíprocas)								
<i>L PE</i>	1	2.7 ± .5	24.5 ± 2	31 ± 5	6.6 ± 1	3.6 ± .2	3.1 ± 1	4.4 ± .5
<i>P PE</i>	1	3.2 ± 1	29 ± 2	26.9 ± 6	5.8 ± 1	3.3 ± .3	2.5 ± .4	4.6 ± 1
<i>LI</i>	1	3.3 ± .1	17.2 ± .3	33.7 ± 4	6.9 ± .1	3.8 ± .2	3.1 ± .3	2.9 ± .1
<i>PI</i>	1	3.2 ± .1	15.6 ± 1	21.2 ± 4	5.4 ± .1	2.9 ± .1	2.5 ± .1	2.5
Material de referencia (A y A PE) y Testigo "Y"								
<i>A PE</i>	1.2	3.8	23.8 ± 2	30 ± 1	5.8 ± .4	3.5 ± .3	2.3 ± .1	5.2 ± .1
<i>AI</i>	1	4.1 ± .1	14.5 ± .2	30.4 ± 3	5.2 ± .2	3.1	2.1 ± .2	3.2 ± .1
<i>YI</i>	1	3.8 ± .1	17.3 ± 1	31.6 ± 3	6.7	3.7 ± .1	2.9	2.6 ± .5

NC, RC, LT, LR, PPC, PT, PR, NH = Número de coleóptilo(s), de raíces de corona, de raíces laterales, longitud de radícula, peso completo de planta, peso de tallo, peso de raíz, número de hojas.

El número de hojas completas en plántulas de esta edad (cuando las láminas foliares cuentan con aurículas y el collar visibles en su base, estructuras previas a la unión con el tallo) se presentó en promedios de 2.6 a 5.2. Es notable que el prototipo de maíz común (Testigo AN-447) esté en el rango inferior mientras que BAP esté en el superior. En general, las plántulas de los genotipos segregantes PE, por presentar dos o más plántulas por semilla germinada, tienen un número mayor de hojas (4.2 en promedio general) que las plántulas individuales (2.8 en promedio). Uno de los significados de esta ventaja de las PE es la superación del reto de manifestar plúmulas múltiples con hojas en el mismo estado de desarrollo que el de las plántulas individuales, cuya semilla de origen sólo tienen que nutrir a una sola plántula.

El número de raíces de corona (RC, Cuadro 4.7), cuyo desarrollo se inicia a la etapa-plántula de una hoja (V1, según Ritchie *et al.*, 1993), pudiera ser un indicador de la velocidad con que la nueva planta empieza a nutrirse del ambiente del suelo. Los datos promedios indican que los genotipos F₂ y sus referentes presentaron de 3 a 5 raíces iniciales, situando el mayor número de ellas en los genotipos segregantes Individuales. El presunto rezago en RC de los genotipos PE pudiera deberse a que los nutrientes de reserva del grano se canalizan mayoritariamente a sostener a las dos o más plúmulas y en menor monto al desarrollo de otras estructuras.

En el grupo de cruzas recíprocas no se encontraron grandes diferencias entre plántulas PE e Individuales, sin embargo, se comporta mejor el material "L" tanto en el grupo de plantas PE como en las plantas No-PE. Esta condición positiva pudiera tomarse en cuenta utilizando a el genotipo L para futuras investigaciones y aumentar la frecuencia de la poliembrionía por su buena expresión fenotípica.

Las medidas de longitud, sea de tallo o raíz, discrepan notablemente entre los grupos PE y No-PE. En general, a los 14 días de edad, la radícula presenta una longitud 45 a 55 % mayor a la de tallo. Tómese en cuenta que los promedios de genotipos PE corresponde a la suma de dos tallos, por lo que el dato, al individualizarse debe corresponder al promedio del valor en el Cuadro. Tomando como referencia al testigo y genotipo de referencia individual, la longitud promedio del tallo a 14 días de edad es de 14 a 17 cm, mientras que la radícula es de 30 a 32 cm. En primera observación, las diferencias entre genotipos podrán validarse a través de las medidas de peso.

Las variables peso fresco total y su separación en peso fresco de tallo y peso fresco de estructuras del sistema radical (SRS) o de raíz (Cuadro 4.7) discrepan dentro y entre grupos. En general, el peso fresco de plántulas completas a esta edad se situó entre 5.1 y 6.7 g, correspondiendo los valores nominalmente más altos al testigo y algunos genotipos individuales. Como se dijo antes, a

diferencia de los casos de plántulas individuales, los genotipos PE se componen de dos tallos pero mayoritariamente de sólo un SRS. De este modo, la comparación de datos en cuanto al peso del SRS es directa. En el caso de tallos, si se quisiera comparar datos a nivel de tallos individuales, los valores promedio de los PE deberán considerarse a la mitad del valor que se presenta en el Cuadro 4.7. En general, el peso fresco de la raíz es 20 a 30 % menor que el peso fresco del tallo (promedios: 2.4 vs 3.3 g). Por otra parte, los datos permiten señalar que existen diferencias notables entre grupos genotípicos en las variables de peso fresco de tallos y raíces. En general, las plántulas PE pesan en promedio menos que el testigo (híbrido comercial de alta producción), y de algunos genotipos en el grupo de plántulas individuales. Las comparaciones finales se presentan en la sección de ANVAs, más adelante.

Familias de alta frecuencia PE y Retrocruzas (RC₁)

Los valores promedio para los grupos RC₁ y Familias PE relativos a las variables de número, longitud y peso fresco a los 14 días de edad, así como los datos de testigo y población BAP aparecen en el Cuadro 4.8.

Las variables de número de estructuras RC y NH presentan semejanza con lo observado en las familias F₂, aunque ligeramente más altas. Sin embargo, en los genotipos PE de esta sección, el NC promedio es igual o mayor de 1.1 denotando la ocurrencia de coleoptilos múltiples por grano germinado en plántulas PE. La proporción de NC-múltiples va de 12 a 20 %, notablemente superior a los de los observados en los grupos del Cuadro 4.7. Una explicación demostrable es que los genotipos CR₁ poseen 75 % de germoplasma PE proveniente de BAP y las Familias de alta PE son prácticamente igual a BAP. A diferencia de las F₂, que sólo poseen 50 % de germoplasma procedente de BAP.

Cuadro 4.8. Valores promedio de las variables de plántula en los grupos RC₁ y Familias PE, y genotipos testigo y de referencia.

Genotipos	NC	RC	LT	LR	PPC	PT	PR	NH
Retrocruzas (RC ₁)								
<i>Q PE</i>	1.1 ± .1	6.5 ± .5	26 ± 1	35.6 ± 2	7.4 ± .4	4.2 ± .1	3.2 ± .4	4.8 ± .1
<i>R PE</i>	1.3 ± 1	6.4 ± 1	24.8 ± 1	32.8 ± 3	6.9 ± 1	3.9 ± 1	3 ± 1	4.6 ± .3
<i>S PE</i>	1.3 ± .1	4.5 ± 3	29.8 ± 1	35.7 ± 1	7.7 ± 1	4.5 ± .5	3.2 ± 1	4.9 ± 1
<i>W PE</i>	1.3 ± .2	2.6 ± 1	25.8 ± 2	25 ± 6	5.6 ± .1	3.5 ± 1	2.1 ± .1	4.4 ± .1
<i>Q I</i>	1	4.4 ± .2	16.3 ± 1	38.2 ± 1	8.4 ± 1	4.3	4.1 ± .6	2.9 ± .1
<i>R I</i>	1	5.3 ± .1	16.3 ± 2	31.7 ± 2	7 ± 1	3.6 ± .1	3.4 ± 1	2.8 ± .1
<i>S I</i>	1	3.9 ± 1	17.2	30.4 ± 5	6.6 ± 1	3.6 ± .1	3 ± .5	2.8 ± .2
<i>W I</i>	1	2.9 ± 1	17.2 ± 1	28.3 ± 2	6.2 ± .5	3.5 ± .1	2.7 ± .4	3 ± 1
Familias altamente poliembriónicas								
<i>F PE</i>	1.1 ± .1	3.7 ± .1	27.7 ± 3	28.2 ± 1	5.3 ± 1	3.4 ± .3	2 ± .4	4.5 ± .1
<i>I PE</i>	1.4 ± .4	5.3 ± .2	23.2 ± 2	27.2 ± 3	4.6 ± .4	2.7 ± .1	1.9 ± .3	4.1 ± .5
<i>U PE</i>	1.1	3.2 ± 1	24.3 ± 3	28.1 ± 3	5.8 ± .5	3.7 ± .3	2 ± .3	4.8 ± 1
<i>X PE</i>	1.3	3.6 ± .5	23.2 ± 1	29.4 ± 5	6.3 ± .3	3.8 ± .1	2.5 ± .2	5.3 ± .5
<i>F I</i>	1	3.5 ± .4	16.2 ± 3	24.8 ± 2	5 ± .1	3.1 ± .2	1.9 ± .1	2.4 ± .1
<i>I I</i>	1	4.7 ± .4	15.3 ± 4	29.4 ± 4	5.1 ± 1	3 ± .3	2.1 ± .4	2.7 ± .4
<i>U I</i>	1	2.8 ± .4	14.3 ± 1	29 ± 3	5.1 ± 1	3.1 ± .1	2 ± 1	3.1 ± .1
<i>X I</i>	1	2.9 ± 1	15.2 ± .1	28.6 ± 6	6.2 ± 1	3.4 ± .4	2.7 ± .4	2.9 ± .1
Material de referencia (A Y APE) y Testigo								
<i>A PE</i>	1.2	3.8 ± .1	23.8 ± 2	30 ± 1	5.8 ± .4	3.5 ± .3	2.3 ± .1	5.2 ± .1
<i>A I</i>	1	4.1 ± .1	14.5 ± .2	30.4 ± 3	5.2 ± .2	3.1	2.1 ± .2	3.2 ± .1
<i>Y I</i>	1	3.8 ± .1	17.3 ± 1	31.6 ± 3	6.7	3.7 ± .1	2.9	2.6 ± .5

NC, R de C, LT, LR, PPC, PT, PR, NH=N° de coleóptilo, Raíces de corona, Raíces laterales, Peso completo de planta, Peso de tallo, Peso de raíz, Numero de hojas.

La longitud de tallo y radícula presentaron ligera variación dentro y entre grupos genotípicos. En general, a la edad de 14 días, las plántulas presentaron un desarrollo de la parte aérea promedio de 14.5 cm, mientras que el dato promedio para radícula fue de 30.2 cm, datos muy similares a los observados en los grupos F₂. Por otra parte, las variables de peso fresco presentaron valores ligeramente mayores (\approx 0.3 g más) que los genotipos F₂, sin embargo, no se detectan diferencias entre los valores promedio de genotipos PE e Individuales. Como en el caso de los genotipos del Cuadro 4.7, los valores promedio de peso fresco de tallo

y SRS discrepan, siendo mayores los primeros, como sigue: promedio genotipos PE, SRS = 2.5 g vs 3.6 g para tallo. Promedio genotipos Individuales, SRS = 2.5 g vs 3.3 g para tallo, que en general significa que la raíz presenta 25 a 30 % menos peso que el tallo.

El número de hojas (NH) completas, se presentó en números muy semejantes a los observados en los grupos F_2 . Conviene señalar que en todas estas comparaciones, debe tomarse en cuenta que en RC_1 , la proporción de germoplasma de la fuente PE (proveniente de BAP) es 75 % y que sólo 25 % proviene de las líneas endogámicas, por lo tanto, es razonable observar los promedios de estos genotipos, que son más comparables con el desempeño de las Familias PE o con los de la población de referencia BAP.

El material o genotipo con mejores promedios en las retrocruzas resultó ser el denominado “S” en el grupo PE ya que presenta más de un coleoptilo, y es superior en casi todas las variables. Por el contrario, el peor es el material “W” en condición PE. Los mejores materiales en las Familias PE fue la denominada como “X” en el grupo de plantas PE presentando más coleóptilos, y que pueden o no tener sus propias estructuras independientes una a la otra, desarrollándose mejor, generando plantas como mayor productividad (Villareal *et al.*, 2010).

Análisis de datos (ANVA) para las cruzas F_2 directas y recíprocas

Los datos de las ocho variables medidas en plántulas de los diferentes grupos segregantes se sometieron a análisis de varianza con la finalidad de detectar diferencias estadísticas entre genotipos en las variables de estudio. Es claro que algunas de las variables no presentan un comportamiento propio de la distribución normal y por lo tanto los valores estadísticos estimados impactan negativamente a indicadores como CV (coeficiente de variación), y el coeficiente R^2 , que explica la proporción de la varianza atribuible al modelo aplicado. De cualquier modo, los resultados del ANVA permiten derivar algunas conclusiones de interés al propósito de este trabajo de investigación.

Los resúmenes de los análisis de varianza se presentan en los Cuadros 4.9 y 4.11. El primero contiene los resultados de los grupos F₂ directas y recíprocas, y el segundo los de RC₁ y familias de alta frecuencia PE. Cuando se detectó diferencias estadísticas entre genotipos, se aplicó una prueba de medias, los cuales aparecen en los Cuadros 4.10 y 4.12, respectivamente. Es conveniente recordar que los datos de cada genotipo contiene información como plántulas PE e Individuales, manejados como dos genotipos.

Cuadro 4.9. Análisis de varianza en los genotipos de F₂ directas y recíprocas, diferentes variables.

Estadístico	TC	NC	RC	LT	LR	PPC	PT	PR	NH
GI	CD	10	10	10	10	10	10	10	10
	CR	6	6	6	6	6	6	6	6
Sc	CD	0.49	12.99	380.04	487.4	21.69	21.09	4.4	3.48
	CR	0.07	3.04	54.67	202	5.19	10.41	1.62	1.50
CM	CD	0.05	1.3	38	48.74	2.17	2.10	0.44	0.34
	CR	0.01	0.51	9.11	33.67	0.87	1.73	0.27	0.25
CM del Error	CD	0.5	11.87	64.3	285.5	7.4	0.77	1.6	0.43
	CR	0	1.15	4.40	107.8	1.66	0.115	0.25	0.87
Prueba de F	CD	1.08	1.2	6.53*	1.88	3.20*	29.95 **	3.03	6.49*
	CR	1.54	3.07	14.50 **	2.19	3.65*	105.68 **	1.06	4.09*
C.V	CD	20.05	23.37	15.6	16.68	14.58	10.37	16.04	9.33
	CR	8.38	11.82	5.37	13.42	8.04	4.81	19	9.48
R²	CD	50	52	85	63	74	96	73	85
	CR	10	72	92	65	76	98	48	77
Media Gen	CD	1.06	4.45	14.75	30.55	5.64	2.55	2.38	2.48
	CR	1.03	3.44	20.27	29.25	6.06	2.66	2.65	2.63

TC=Tipo de Cruza: CD, CR Cruza directas y recíprocas; NC = Número de coleóptilos; RC= Raíces de corona; LT = longitud de tallo; LR = longitud de radícula; PPC = peso fresco completo de planta; PT= peso fresco de tallo; PR = peso fresco del sistema radical seminal; NH = número de hojas. (*) Significativo, (**) altamente significativo.

Del conjunto de 8 variables de estudio, sólo cuatro presentaron diferencias estadísticas, de hecho, sólo LT y PT presentaron significancia a $P < 0.01$. Los estadísticos básicos en las cuatro variables son los adecuados, $CV < a 16 \%$ y $R^2 > a 74 \%$, lo cual proporciona confianza en el tipo de análisis practicado.

Los ANVA en todo grupo se realizaron utilizando la mitad del valor de los datos fuente correspondientes a los grupos PE con la finalidad de hacerlos comparables a los datos individuales, en las variables LT, PPC, PT y NH, ya que en los casos de plántulas PE se registraron como datos base la suma de las dos mediciones tomadas en las plántulas dobles.

La significancia estadística condujo a la aplicación de prueba de rango múltiple en las medias de cada genotipo, PE o Individual, en cada uno de los grupos, para establecer la jerarquía de sus valores promedio (Cuadro 4.10). En éste se consigna las medias de genotipos en los grupos F_2 , directas y recíprocas, para las variables LT, PT y NH.

Los resultados de prueba de medias en las tres variables permiten señalar que, en general, los genotipos individuales presentaron los valores más altos, estadísticamente superiores. La consideración de asociar a valores altos de longitud con peso de tallo (LT alto con PT alto) se pudo documentar en los casos de los genotipos D Individual y H Individual en las F_2 directas, y a través de L Individual y P individual, en F_2 recíproca (Cuadro 4.10). Sin embargo, estos genotipos se situaron en jerarquía intermedia en la variable NH, esto pudiera significar que los genotipos de esta naturaleza crecen más y pesan más de maneara independiente al número de hojas completas exhibidas por plántulas de 14 días de edad.

Cuadro 4.10. Comparación de medias para la cruza F₂ directas y recíprocas en las variables[‡] que presentaron diferencias estadísticas.

F ₂ LT CD	F ₂ LT CR	F ₂ PT CD	F ₂ PT CR	F ₂ NH CD	F ₂ NH CR
DI 22.15 a	YI 17.30 a	DI 3.85 a	LI 3.75 a	AI 3.20 a	AI 3.20 a
HI 21.70 a	LI 17.20 a	YI 3.75 a	YI 3.75 a	GI 2.85 ab	LI 2.90 ab
GI 17.85 ab	PI 15.55 a	BI 3.45 a	AI 3.10 b	BI 2.70 ab	YI 2.65 ab
HPE 17.50 abc	AI 14.55 ab	HI 3.15 a	PI 2.85 b	DI 2.65 abc	APE 2.60 ab
YI 17.30 abc	PPE 14.50 ab	AI 3.10 a	APE 1.80 c	YI 2.65 abc	PI 2.50 ab
BI 15.10 abc	LPE 12.50 b	GI 3.05 a	LPE 1.80 c	APE 2.60 abc	PPE 2.30 ab
AI 14.55 abc	APE 11.95 b	DPE 1.95 b	PPE 1.60 c	HI 2.55 abc	LPE 2.15 b
DPE 12.90 abc		APE 1.80 cb		DPE 2.25 bc	
APE 11.95 bc		BPE 1.65 cb		BPE 2.10 bc	
BPE 10.85 bc		HPE 1.60 bc		HPE 2.00 bc	
GPE 8.25 c		GPE 0.80 c		GPE 1.75 c	
DMS 9.56	DMS 3.14	DMS 1.05	DMS 0.5	DMS 0.918	DMS 0.9

[‡]LT, PT y NH: longitud de tallo, peso de tallo y número de hojas. El primer dato en cada columna representa a los genotipos, sean I, individual, o PE, poliembriónico. DMS; diferencia mínima significativa. Tukey ($\alpha= 0.05$).

La longitud de raíz y tamaño del tallo básicamente comprueban la edad de la plántula, ya que esta deja de hacer uso del sistema radical seminal (SRS) al producir la tercer hoja verdadera (Ritchie, *et al* 1993; Bragachini *et al* 2002.). Los datos de este trabajo de tesis son acordes a esta aseveración, ya que el número de raíces de corona (RC) fue notable, y el NH presentadas por los genotipos de jerarquía mayor en la variable alcanzaron valores promedio muy cercanos a 3 hojas verdaderas (Cuadro 4.8).

Es relevante señalar que el testigo híbrido (Y sólo Individuales), representante del maíz común, se ubica entre los primeros lugares en las tres variables, mientras que BAP (AI o APE), el genotipo de referencia para la PE, ocupa lugares intermedios o inferiores en las variables LT y PT, sin embargo, en NH, es el primero o segundo en jerarquía. Este dato apoya la propuesta de que la

longitud y el peso reflejan cierta independencia con el número de hojas a esta edad juvenil de las plantas.

Los genotipos detectados como superiores en características medidas en plántulas (Cuadro 4.10 fueron D, H, L y P, que pertenecen a los grupos segregantes F_2 , directos y recíprocos, respectivamente. Los cuatro genotipos fueron los de mayor altura y mayor peso de tallo, aunque presentaron un valor intermedio en el promedio de número de hojas (2.5 hojas, aproximadamente). El genotipo A (BAP) presentó el mayor valor en NH, estadísticamente superior, pero sus valores LT y PT fueron inferiores. El genotipo Y (testigo) presentó, en lo general, valores altos para LT y PT, pero valores intermedios para NH. Estas condiciones pudieran significar que el crecimiento (LT) y la acumulación de agua y materia seca (PT) en estas plántulas de 14 días de edad están asociados a la eficiencia funcional de las hojas pero no necesariamente al número más alto de ella

Análisis de datos en plántulas RC_1 y Familias de alta frecuencia PE

El tratamiento conjunto de los datos de RC_1 y Familias PE es sólo con fines de integración de la información, ya que tienen poco en común. Las primeras segregaron la poliembriónía en proporciones alrededor de 12:4 (Normales: PE), mientras que las Familias PE presentaron progenies con frecuencias de PE en el intervalo de 55 a 65 %. Lo interesante de esto, radica en que de los grupos segregantes de cruzas BAP x Exóticos en este trabajo, las RC_1 son las que tienen mayor proporción del mutante, y por lo tanto, se aproximan a la expresión fenotípica de las Familias típicamente PE.

Los resultados del análisis de varianza se presenta en Cuadro 4.11. Como puede apreciarse, las variables más impactadas por diferencias entre genotipos son, de nuevo, las denominadas LT, PT y NH, aunque se detectó significancia ($P < 0.05$) en algunas otras, *i. e.* RC, PPC y PR en Familias PE, y en NC para RC_1 . La manifestación de diferencias entre familias en prácticamente todas las variables

de estudio pudiera representar una muestra de la variación amplia de las poblaciones PE generadas en el IMM-UAAAN.

El promedio general de longitud de tallo fue de 14 a 15 cm, sin importar el grupo aquí analizado, que resultó igual o inferior al de los grupos F_2 , donde si se detectó diferencias notables entre cruzas directas y recíprocas (Cuadro 4.9). El peso fresco general de tallo (PT) se situó entre 2.5 a 3 g, similar al observado en las F_2 . El número promedio general de hojas resultó en el intervalo de 2.6 a 4.0, ligeramente superior al observado en las F_2 . Por otra parte, en Familias PE, las variables peso fresco de planta completa (PPC) y fresco de raíz (PR) promediaron 1 g y 0.5 g menos que las observadas en RC_1 (Cuadro 4.11) pero dada la diferencia estadística detectada entre Familias, se espera que al menos una presente un dato superior a 5.5 g y superior de 2.2 g en PR. En el mismo orden de análisis, la diferencia estadística detectada entre genotipos para la variable número de raíces de corona (RC) tuvo al menos a una Familia con valor superior a 3.8 raíces.

Algunas variable no presentan cambios ni tampoco diferencias significativas como longitud de raíz y peso de raíz (cuadro 4.9 y cuadro 4.6) por lo cual si presentase una diferencia significativa esta se le atribuiría al genotipo y a la expresión de este pero no la poliembriónía ya que se comportan de manera igual las plantas individuales como poliembriónicas (cuadro 4.1).

Cuadro 4.11. Análisis de varianza en los genotipos de Retrocruzas (RC₁) y Familias de alta frecuencia PE poliembrionica.

Variable	ID	NC	RC	LT	LR	PPC	PT	PR	NH
GI	RET	10	10	10	10	10	10	10	10
	FAM	10	10	10	10	10	10	10	10
Sc	RET	0.37	30.82	85.82	276.1	17.69	17.10	6.83	1.84
	FAM	0.35	10.59	78.79	64.84	8.9	13.98	2.41	2.45
CM	RET	0.037	3.081	8.58	27.61	1.769	1.71	0.68	0.84
	FAM	0.034	1.06	7.87	6.484	0.89	1.39	0.24	2.24
CM del Error	RET	0.75	11.06	10.54	107.79	5.75	0.30	2.59	0.51
	FAM	0.14	2.01	24.72	125.82	2.13	0.28	4.12	0.59
F Calculada	RET	5.44 *	3.06	8.95**	2.82	3.38	62.71**	2.9	3.98*
	FAM	2.61	5.8*	3.51*	0.57	4.59*	54.68**	4.12*	4.53*
C.V	RET	7.42	23.03	6.57	9.85	10.84	5.74	16.73	8.11
	FAM	10.48	11.33	10.71	11.75	7.94	6.28	10.87	8.83
R²	RET	83	73	89	71	75	98	72	78
	FAM	70	84	76	34	80	98	78	80
Media Gen	RET	1.11	4.36	14.89	31.77	6.67	2.87	2.90	3.98
	FAM	1.10	3.77	13.99	28.79	5.55	2.54	2.23	2.63

ID = Identificación del grupo (RET: Retrocruzas, y FAM: Familias de alta frecuencia PE)
 NC=Número de coleoptilo; RC = Raíces de corona; LT = longitud de tallo; LR = longitud de raíz;
 PPC = peso fresco completo de planta; PT= peso fresco de tallo; PR = peso fresco de raíz; NH =
 número de hojas. (*) Significativo, (**) altamente significativo.

Las pruebas de rango múltiple (Tukey, $\alpha < 0.05$), aplicadas solamente a las variables LT, PT y NH, se presentan en el Cuadro 4.12. Los genotipos con expresión superior se concentran en casos de condición de “plántulas individuales” en lugar de su versión de genotipo PE. Es decir, los granos que germinan en una

sola plántula crecen y pesan más al compararse con plántulas PE de su mismo genotipo, aunque presentan un número de hojas moderado o promedio, y no el más alto. Este comportamiento es similar al señalado para los genotipos en F₂. Una explicación probable para esto es que las semillas que germinan en condición PE, utilizan en etapas muy tempranas del desarrollo juvenil la reserva nutrimental de su grano para lograr la emisión de dos o más plúmulas, y en ocasiones dos o más estructuras como son: coleoptilo, mesocotilo y radícula, como se ha documentado en este trabajo, manifestando de esta forma la poliembriónía. Este gasto energético inicial dedicado a emerger dos o más plántulas podría retrasar el crecimiento de las mismas, lo cual podría compensarse en etapas posteriores cuando las plantas múltiples de la condición PE ejerzan su función fotosintética.

Cuadro 4.12. Comparación de medias para la Retrocruzadas (RC₁) Y Familias de alta frecuencia PE en las variable[‡] que presentaron diferencias estadísticas

RC ₁ LT	FAM LT	RC ₁ PT	FAM PT	RC ₁ NH	FAM NH
YI 17.30 a	YI 17.30 a	QI 4.30 a	YI 3.75 a	AI 3.20 a	AI 3.20 a
SI 17.20 a	FI 16.22 a	YI 3.75 ab	XI 3.45 ab	WI 3.00 ab	UI 3.05 ab
WI 17.15 a	II 15.30 a	SI 3.60 ab	AI 3.10 b	QI 2.90 ab	XI 2.95 abc
RI 16.30 ab	XI 15.25 a	RI 3.55 b	FI 3.07 b	SI 2.75 ab	II 2.75 abc
QI 16.30 ab	AI 14.55 a	WI 3.50 b	UI 3.05 b	RI 2.75 ab	XPE 2.65 abc
SPE 14.85 abc	UI 14.30 a	AI 3.10 b	II 3.00 b	YI 2.65 ab	YI 2.65 abc
AI 14.55 abc	FPE 13.85 a	SPE 2.20 c	XPE 1.90 c	APE 2.60 ab	APE 2.60 abc
QPE 12.95 bc	UPE 12.15 a	QPE 2.10 c	UPE 1.80 c	SPE 2.75 ab	FI 2.45 abc
WPE 12.90 bc	APE 11.95 a	RPE 1.95 c	APE 1.80 c	QPE 2.35 ab	UPE 2.40 abc
RPE 12.40 c	XPE 11.60 a	APE 1.80 c	FPE 1.70 c	RPE 2.30 b	FPE 2.20 bc
SPE 11.95 c	IPE 11.45 a	WPE 1.75 c	IPE 1.35 c	WPE 2.25 b	IPE 2.05 c
DMS 3.88	DMS 5.94	DMS 0.65	DMS 0.63	DMS 0.85	DMS 0.92

[‡]LT, PT y NH: longitud de tallo, peso de tallo y número de hojas. El primer dato en cada columna representa a los genotipos, sean I, individual, o PE, poliembriónico. DMS; diferencia mínima significativa. Tukey ($\alpha= 0.05$).

Las variables que presentaron diferencias estadísticas entre genotipos en las variables adicionales RC, PPC y PR, grupo Familias PE, se presentan en el Cuadro 4.12.b. Las evidencias permiten señalar que a diferencia de los grupos F_2 y RC_1 , aquí los genotipos de mayor valor son independientes de la condición de plántula Individual o PE. La característica de número de raíces de corona es relevante ya que presenta la capacidad del genotipo de utilizar de manera más rápida el sistema radical definitivo para el mantenimiento, crecimiento y desarrollo de la planta juvenil. Es notable señalar que los genotipos denominados aquí como I y X, sean Individuales o PE, representan a grupos segregantes de la combinación de una Familia NAP en cruzamiento con BAP, y son de los que presentaron buen desempeño en la mayoría de estas variables adicionales.

El peso fresco del total o partes de las plántulas requiere de acompañarse de mediciones en cuanto a peso seco, ya que este refleja de mejor manera la acumulación de materia asociado al crecimiento. De cualquier manera, en los datos de peso fresco obtenidos en este trabajo, no se observó correspondencia consistente entre los pesos de tallo y de raíz, desagregados del peso fresco total de la plántula.

Cuadro 4.13. Comparación de medias en Familias de alta frecuencia PE en las variable[‡] que presentaron diferencias significativas.

RC	PPC	PR
IPE 5.25 a	YI 6.70 a	YI 2.90 a
II 4.75 ab	XPE 6.30 ab	XI 2.75 ab
AI 4.10 abc	XI 6.25 abc	XPE 2.45 ab
YI 3.85 abc	APE 5.85 abc	APE 2.35 ab
APE 3.80 abc	UPE 5.75 abc	II 2.15 ab
FPE 3.70 abc	AI 5.25 abc	AI 2.15 ab
FI 3.55 bc	FPE 5.25 abc	UPE 2.0 ab
XPE 3.55 bc	UI 5.10 abc	UI 2.0 ab
UPE 3.20 bc	II 5.10 abc	FPE 1.95 ab
XI 2.90 c	FI 4.95 bc	IPE 1.90 b
UI 2.85 c	IPE 4.55 c	FI 1.88 b
DMS 1.69	DMS 1.74	0.95

[‡]RC, PPC y PR: N° de raíces de coronas, peso total de planta y peso de raíz. El primer dato en cada columna representa a los genotipos, sean I, individual, o PE, poliembriónico. DMS; diferencia mínima significativa. Tukey ($\alpha= 0.05$).

V.CONCLUSIONES

Con base los objetivos, hipótesis y metodología aplicada bajo las condiciones de este trabajo de investigación, puede concluirse en lo siguiente.

El desarrollo alcanzado por las plántulas observadas en este trabajo de manera general a los 14 días, presentaron 3 a hojas, de 4 a 5 raíces laterales con un tamaño de 14 a 17 cm. Las plantas poliembriónicas no presentaron grandes diferencias en desarrollo al de plantas individuales y testigo.

La poliembriónía como carácter mutágeno es difícil identificarlo en los grupos genotípicos (F_2 , RC_1 y Fam PE), se identifican a los progenitores AN-7 y TEP 3 como germoplasmas de efectos positivos, en las cruzas con la población PE (BAP).

La proporción de segregación de la PE F_2 en RC_1 de este trabajo se ajusta al modelo de herencia propuesta para este tipo de poliembriónía.

La poliembriónía identificada en el IMM-UAAAN puede alterar el número de estructuras claves en el proceso de germinación y emergencias de plántulas como son; la presencia de más de un coleóptilo y/o más de una radícula por semillas germinada.

Nominalmente las plantas de condición poliembriónica califican con valores intermedios en las variables como peso de raíz (RC), peso de plantas completas (PPC), peso de raíz (PR) y numero de hojas (NH), manifestándose en forma baja en longitud de tallo (LT) y peso de tallo (PC), no habiendo diferencias en las demás variables en comparación a las plantas individuales. Es viable la recuperación de la poliembriónía de fondos genéticos distintos con un potencial de aprovechamiento, al diseño nuevo variedades de producción.

VI.LITERATURA CITADA

- Álvarez A.** 2006. Aplicaciones del maíz en la tecnología alimentaria y otras industrias. Maíz y nutrición. Argentina. pp. 9-14.
- Atak Ç., S. Alikamanoğlu, L. Açık And Y. Canbolat.** 2004. Induced of plastid mutations in soybean plant (*Glycine max* L. Merrill) with gamma radiation and determination with RAPD. *Mutation Research* 556: 35-44.
- Avendaño S,M.C.** 2012. Relación entre Poliembrionía, Apomixis y Xenia en Maíces poliembriónicos, Tesis de Maestría en ciencias en Fitomejoramiento por Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. pp. 32-47.
- Benz, B. F.** 2006. Maize in the Americas in Staller J.E., R.H. Tykot & B.F. Benz (ed.) *Histories of Maize*. Elsevier-Academic Press. EUA. Pp. 9-20.
- Benz, B. F.** 2001. Archaeological evidence of teosinte domestication from Guilá Naquitz. *PNAS* 98 (4): 2104-2106
- Borror, D.J.; Ch.A. Triplehorn and N.F. Johnson.** 1989. An Introduction to the study of Insects. Sixth Edition. Saunder College Publishing. Chapter 1.
- Bhanwra, R. K., Sharman, M. L. y Vij, S. P.** 2001. Comparative embryology of *Bambusa tulda* Roxb. And *Thyrsostachys siamensis* Gamble (Poaceae: Bambuseae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 135(2):113 – 124.
- Brunner. H.,** 1995. Radiation induced mutations for plant selection. *Applied Radiation and Isotopes* 46: (6/7): 589-594.
- Byerlee. D., & Saad. L.,** 1993. *CIMMYT's economic environment to 2000 and beyond - a revised forecast*. México, DF, CIMMYT.
- Castro, G. M.** 1973. Maíces superenanos para el Bajío. Boletín técnico. Escuela Superior de Agricultura "Antonio Narro" de la Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Coahuila. México.20 p.
- Castro. G.M.E.,** (1979) Estudio sobre herencias y valores nutritivos de semillas con doble embrión, *Avances de investigación en maíz*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista. Coah. Mex. pp. 24-25.

- CETENAL, Centro de Estudios del Territorio Nacional (1975)** Carta Topográfica G14C33, escala 1:50 000. Saltillo, Coahuila. Secretaría de Programación y Presupuesto (SPP), Gobierno Federal de los Estados Unidos Mexicanos. México, D. F.
- Donini P. y A. Sonnino. 1998.** Induced mutation in plant breeding: current status and future outlook. In Somaclonal Variation and Induced Mutation in Crop Improvement. S. Mohan Jain, D. S. Brar and B. S. Ahloowalia Editors. Kluwer Academic Publishers. pp. 255-288.
- Doebley, J. 2003** The Taxonomy of *Zea* Laboratory of Genetics University of Wisconsin-Madison <http://teosinte.wisc.edu/taxonomy.html>. 3/03/2013
- Espinoza .J., Vega. MC., Navarro. E., Burciaga. G.A.,** (1998) Poliembrionía en maíces de porte normal y enano. *Agronomía Mesoamericana*. 9(2): 83-88
- Espinoza. V. J., y Del Bosque. C. J.,** 1999. Memoria del 2do. Taller Nacional de Especialidades de Maíz. Notas científicas. Saltillo, Coahuila.
- Espinoza V., J. y M.C. Vega .** 2000. Maíces de alta frecuencia poliembriónica. En: Memoria del XVIII Congreso Nacional de SOMEFI. Irapuato, Guanajuato, México. 15 al 20 de octubre, 2000. pp.106-108.
- Espinoza. J., L.E. Valdés., H. De León.** 2003. Calidad nutricional del grano en poblaciones de maíz poliembriónico. Libro Científico Anual, Agricultura, Ganadería y Ciencia Forestal en la UAAAN. pp. 288-294.
- Espinosa. J., L. Valdez., M. Gonzalez., V., N. Musito., E. J. Gallegos., J. Sánchez., G. A. Villareal., M. J. Alcalá.,** 2006 (publicado 2008). Estudios genéticos sobre la poliembrionía en maíz. Análisis Retrospectivo. Instituto Mexicano del Maíz, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. pp 5-7
- Espinoza. J., J. Valdés., M.J. Alcalá.,** 2012. Morfología y Anatomía de Radículas Múltiples en Plántulas de Maíz Derivadas de Cariopsis con Poliembrionía. *Polibotanica*. ISSN 1405-2768. pp. 207-221

- Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura, FIRA** (2012) Panorama Agroalimentario, Maíz 2012. Dirección de Investigación Económica y Sectorial. Documento elaborado por Salvador Darío Gaucín Piedra, 3-22 pp. México
- González. V.M., V.J Espinoza., R.V. Mendoza., H. C. De León., Ma. T. Torres.** 2011. Caracterización de Germoplasma de Maíz que Combina un Alto Contenido de Aceite Y Poliembriónía. Universidad y Ciencia Trópico Húmedo. Instituto Mexicano del Maíz-UAAAN. Departamento de Ciencias Básicas-UAAAN. Coahuila, México. pp 159-164.
- Griffiths, A .J. F, S.R,Wessler., R.C, Lewontin., W,M, Gelbart., D.T,Suzuki., J.H, Miller.** 2005. Introduction to Genetic Abalysis, Eighth Edition. ISBN:0-71-67-49-39-4 pp 328.
- Hallauer A R, F O Miranda** (1988) Quantitative Genetics in Maize Breeding. Iowa State University Press. USA. pp 468.
- Kato, T.A., C. Mapes, L.M. Mera, J.A. Serratos, R.A. BYE.** 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. pp 35-70.
- Kuleshov, N.N.** 1933. World`s diversity of phenotypes of maize. J. Am. Soc. Agron. 25: 588-700.
- Kermicle, J.L.** 1969. Androgenesis conditioned by a mutation in maize. *Science*, 166: 1422-1424.
- Méndez. G., J. Solorza., M. Velázquez., N. Gómez., O. Paredes., y L.A. Bello.,** 2005. Composición química y caracterización calorimétrica de híbridos y variedades de maíz cultivadas en México. pp 267-274.
- Morris, M. L. y M. A. López Pereira.** 2000. *Impactos del mejoramiento de maíz en América Latina, 1966 1997.* México, D.F.: CIMMYT. pp 28.
- Musito. N, J. Espinoza., M. Gonzales., E.J. Gallegos., H. de León,** 2008. Características de plántulas en familias derivadas de una población de maíz poliembriónico. *Revista Fitotecnia Mexicana.* Coah. Mex. pp 339-402.

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura, FAO (2013)
<http://www.fao.org/worldfoodsituation/wfs-home/csdb/es/> fecha 22 de enero del 2013

Paliwal, L.R., 2001. El maíz en los trópicos: Mejoramiento y Producción. ISSN. 1014-3041.

Pesev, N.R., Petrovic, Lj Zecevic & M Milosevic (1976) Study of possibility in raising maize inbred lines with two embryos. Theor. Appl. Genet. 47: 197-201

Piperno, D. R. & K. V. Flannery. 2001. The earliest archaeological maize (*Zea mays* L.) from highland Mexico: New accelerator mass spectrometry date and their implications. PNAS 98 (4): 2101-2103

Rebolloza H.H., J. Espinoza., D. Sámano., V. M. Zamora., 2011. Herencia de la Poliembrionía en dos Poblaciones Experimentales de Maíz. Revista Fitotecnia Mexicana, Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C. Chapingo, México pp. 28-33.

Ritchie S. y J.J Hanway, 1989. How a corn plant develops. Special report No. 48. Iowa State University and Technology Cooperative Extension Service. Ames. Iowa. pp. 3-7

Rodríguez, H., S.A. 1981: Determinación de la heredabilidad y efectos de la selección para el carácter doble embrión en maíz (*Zea mays* L.). Tesis Lic. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. México. 48p.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (SAGARPA) 2010. http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/_Estudios_promercado/GRANOS.pdf 10 de enero del 2012.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) 2007. [http://sagarpa.gob.mx/cgcs/boletines/2007/agosto / conferencia 070807 .PDF](http://sagarpa.gob.mx/cgcs/boletines/2007/agosto_conferencia_070807.PDF) 24 de enero del 2012.

Servicio a la Información Agroalimentaria y Pesquera. (SIAP). 2012. http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=51

&Itemid=381 apartado: situación y perspectiva del maíz 1996-2012. 24 de enero del 2013.

Servicio a la Información Agroalimentaria y Pesquera. (SIAP). 2010. http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=367:numeros-fundamentales-de-un-cultivofundamental&catid=6:boletines&Itemid=569 fecha 24 de enero del 2013.

Steel, R.G. y J.H. Torrie. 1998. Bioestadística: Principios y Procedimientos. 2da. Ed. (1ª en español). Mc Graw Hill. M

Tiessen, F. A. 2012. Fundamentos de mejoramiento genético vegetal. CINVESTAV. Irapuato. Mex. pp.388-390.

Tiessen, F. A. 2009. Fundamentos y Metodologías Innovadoras para el Mejoramiento Genético de Maíz. CINVESTAV. Irapuato, Mex. pp.332-480.

Valdez Lara, E Lizbeth. 2005. Ganancia en calidad nutrimental del grano como respuesta asociada a la selección para poliembrionía en maíz. Tesis de maestría en ciencias en Fitomejoramiento por la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. pp 92.

Villarreal, A., R Rodríguez., H Reyes., J Espinosa., F Castillo,. 2010. Xenia y su relación con la poliembrionía en maíz. Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila 2(3): pp. 257-264. Disponible en http://www.postgradoe_investigacion.uadec.mx/Documentos/AQM/AQM3/6.-%20Villarreal-herrera_Xenia.pdf

Wenke, J.R.1980. Patterns in prehistory-man Kinds firs three million years. Oxford UniversityPress.New York.

Zverzhanskaya, L.S.; Grishina, E.V.; Komarova, P.I. 1989. Study of the gametophyte and of grain set in monolpoids of maize. Apomiksis-i-Tsitoembriologiya- Rastenii: Mezvuzovskii nauchnyi sbornik. USSR. (8): pp.68-82.