

**FORMACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE GRUPOS GERMOPLÁSMICOS  
DE MAÍZ, POLIEMBRIÓNICOS Y ALTO CONTENIDO DE ACEITE**

**VÍCTOR MANUEL GONZÁLEZ VÁZQUEZ**

**TESIS**

Presentada como Requisito Parcial para  
Obtener el Grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS  
EN FITOMEJORAMIENTO**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA**

**ANTONIO NARRO**

**PROGRAMA DE GRADUADOS**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

**Diciembre, 2009**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**  
**DIRECCIÓN DE POSGRADO**

**FORMACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE GRUPOS GERMOPLÁSMICOS**  
**DE MAÍZ, POLIEMBRIÓNICOS Y ALTO CONTENIDO DE ACEITE**

**TESIS POR**

**VÍCTOR MANUEL GONZÁLEZ VÁZQUEZ**

Elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de Asesoría  
y aprobada como requisito parcial para optar al grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS**  
**EN FITOMEJORAMIENTO**

**COMITÉ PARTICULAR**

**Asesor principal**

\_\_\_\_\_  
DR. JOSÉ ESPINOZA VELAZQUEZ

**Asesor:**

\_\_\_\_\_  
DR. HUMBERTO DE LEÓN CASTILLO

**Asesor:**

\_\_\_\_\_  
DRA. ROSALINDA MENDOZA VILLARREAL

**Asesor:**

\_\_\_\_\_  
DR. MARIO ERNESTO VÁZQUEZ BADILLO

**Asesor:**

\_\_\_\_\_  
DR. VÍCTOR MANUEL ZAMORA VILLA

\_\_\_\_\_  
**DR. JERÓNIMO LANDEROS FLORES**  
**Director de Posgrado**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Diciembre de 2009

## **AGRADECIMIENTOS**

**A la Inteligencia Suprema.**

**A Mi Alma Mater**, por brindarme la oportunidad de formarme como profesionista y superarme como persona, a todos los maestros que forman parte del programa de fitomejoramiento, por haberme transmitido parte de sus conocimientos.

A Mi Asesor, **Dr. José Espinoza Velázquez**, por su amistad, por su confianza, por sus enseñanzas y por su asesoramiento para la realización de esta tesis.

Al **comité particular de asesoría**, por todas las aportaciones recibidas durante mi formación académica, en el desarrollo experimental y en la redacción y revisión del documento de tesis.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología**, por el apoyo económico en la realización de mis estudios.

Al **Dr. Jerónimo Landeros Flores**, por su apoyo y confianza, para asignar recursos de la Dirección de postgrado para la adquisición de reactivos utilizados en la presente trabajo, así como por apoyar la propuesta de extensión de beca, que en su momento fue aprobada por CONACYT y permitió llegar a la conclusión del presente proyecto.

Al **MC. Daniel Sámano Garduño** por brindar su tiempo y su conocimiento para favorecer el desarrollo del presente trabajo.

A mis compañeros del Postgrado en Fitomejoramiento: *Los del mismo corral*, Noé, Ezequiel, José Manuel y Hermes; *Los de otras cercas*, Armando, Parga, Mezquitic, Susana, Roberto, Cárdenas, Olguita, Peña, Chuma, Samuel, Pedro, Cristóbal, Yanci, Diego, Estela, Aimer, y a todos los que en algún momento me brindaron su apoyo y amistad, Gracias.

A las secretarias de Postgrado: **Ma. Guadalupe Rodríguez Flores “Lupita”**, por su atinada orientación en los trámites relacionados con la dirección de postgrado y su oportuna colaboración en el trámite de la Beca para tesis terminal a nivel doctorado ante COECYT–COAHUILA; y a **Ma. Yolanda Sánchez Valenciano, “Sra. Yola”**, Por su excelente asesoría y realización de trámites para el control de postgrado de la UAAAN y ante CONACYT, desde la solicitud para ingresar al postgrado y hasta la culminación misma del presente documento de Tesis.

A la **L. B. Ma. Guadalupe Moreno Esquivel**, encargada del Laboratorio de de Fitoquímica. Por su Apoyo en la determinación de contenido de aceite y humedad en harina de grano entero de maíz, correspondiente a 51 genotipos con tres repeticiones del ciclo agrícola UA-2008. Por su dedicación en el desarrollo de los procesos y voluntad para sacar adelante el trabajo con calidad y dedicación. Gracias.

Al **T. A. Carlos Alberto Arévalo Sanmiguel**, Encargado del Laboratorio de Nutrición Animal, por su apoyo en la determinación de grasa y proteína en los genotipos formados en el ciclo agrícola UA-2006.

Al **Ing. Raúl Gándara Huitrón**, por su eficiente colaboración en proceso de polinizaciones en los ciclos agrícolas UA-2006 y 2008; así como por el compromiso de desarrollar las tareas encomendadas con dedicación y calidad.

A los **Sres. Rogelio Burciaga Vera y Catarino Clemente Zamora**, por su apoyo y dedicación en el establecimiento y manejo agronómico y de polinizaciones, realizadas en la presente investigación.

Al **Dr. Fernando Borrego Escalante**, por su confianza y atinadas sugerencias durante mis estudios doctorales; y por facilitar el Invernadero de Fisiotecnia, para realizar la calificación de plántula de los genotipos generados en el ciclo UA-2008.

A la **Lic. Laura Olivia Fuentes Lara**, Jefe del Departamento de Nutrición Animal, por su atinados comentarios durante el desarrollo de las determinación de proteína cruda; y por facilitar el laboratorio de Nutrición para realizar las determinaciones químicas de proteína cruda.

A la **M.C. Alejandra Torres Tapia**, por facilitar el laboratorio del Centro de Capacitación en Tecnología de Granos y Semillas, así como, por su apoyo en la capacitación y desarrollo de las pruebas de determinación de lisina.

A la **T. A. Martina de la Cruz Casillas**, por su colaboración en el proceso de determinación de lisina de 51 genotipos con tres repeticiones correspondientes al ciclo agrícola UA-2008.

## DEDICATORIA

A **Dios nuestro Señor**, por la vida, el amor y las grandes bendiciones que me da sin merecerlas.

A **Mis Padres** por enseñarme y acuñar con el ejemplo los principios básicos del respeto y del amor. A Mi Madre, **Margarita Vázquez Rodríguez**, por ser la chispa que me inicio en el camino del aprendizaje profesional, a Mi Padre, **Delfino González Moran**, por haberme guiado y motivado en mi formación personal y profesional.

A mi esposa **Gloria Liliana González Gallegos**, gracias por haberme alentado, acompañado e impulsado en todos los instantes de mis estudios. Te Amo. A mis hijos **Víctor Manuel** y **Josué**; que son la energía bendita que Dios ha mandado para fortalecerme y seguir siempre adelante. A mis hijos, dedico esta Tesis, que sirva de inspiración, para superarse cada día de su vida. Los Amo.

A mis hermanos **Rigoberto, Maribel, Margarita y Dorie Elizabeth**, por compartir grandes momentos felices, que Dios los bendiga.

A mi Tía **Virginia Vázquez**, por todo el cariño que nos ha brindado a mis hermanos y a mi, y por sembrar en mi, esa semilla de conocimiento que ahora me a llevado a ser un profesionista.

## **COMPENDIO**

### **FORMACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE GRUPOS GERMOPLÁSMICOS DE MAÍZ, POLIEMBRIÓNICOS Y ALTO CONTENIDO DE ACEITE**

**POR**

**VÍCTOR MANUEL GONZÁLEZ VÁZQUEZ**

**DOCTORADO EN CIENCIAS EN FITOMEJORAMIENTO**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO, DICIEMBRE, 2009**

**DR. JOSÉ ESPINOZA VELÁZQUEZ ---Asesor---**

Palabras clave: *Zea mays* L., grasa cruda, calidad nutrimental del grano, lisina, poliembrionía.

El maíz (*Zea mays* L.) de uso especializado incluye la versión de alto aceite, que representa una alternativa para generar variedades de calidad nutrimental de grano; éstas pueden ser mejoradas incrementando contenido de aceite y calidad proteica.

Por otra parte, la poliembrionía (PE) es otro fenómeno de interés en maíz por su cualidad de producir dos o más plantas productivas por semilla, y que se relaciona con proteínas de calidad y mayor contenido de aceite en el grano que el maíz común.

En este trabajo fueron combinadas las poblaciones D, poliembriónica (PE), y E, Tuxpeño de alto aceite (AA); a partir de las cuales se derivaron nueve dosis de germoplasma PE:AA (0, 12.5, 25, 37.5, 50, 62.5, 75, 87.5 y 100 %) por la vía de filiales y retrocruzas; con el propósito de: i) constituir el germoplasma base para la derivación de variedades de alta calidad nutricional del grano a más de otras cualidades de importancia agronómica-económica; ii) identificar las dosis de germoplasma PE:AA que confieran la mayor calidad nutricional de grano, *i. e.* mayor concentración de grasa cruda, proteína cruda, y lisina; y iii) ubicar las dosis de germoplasma PE:AA que presenten la posibilidad de una rápida recuperación de la poliembrionía.

Las variables de respuesta fueron: germinación (GE), frecuencia de poliembrionía (PE), en invernadero; contenidos de Grasa y proteína cruda (GC, PC) y lisina (Lis), en laboratorio. Los tratamientos (dosis) para las variables de invernadero así como los de análisis químicos fueron manejados en un diseño completamente al azar con tres repeticiones, con excepción de lisina, que se trabajó con dos repeticiones. Los datos fueron sometidos al ANVA correspondiente; la prueba de medias, cuando procedió, fue vía Tukey,  $\alpha = 0.05$ . También, fue aplicado un análisis de regresión lineal para determinar la dependencia de las variables GC y PE con las diferentes dosis de germoplasmas (dosis). Para probar el mecanismo de herencia que controla la PE, fue aplicada una ji-cuadrada ( $X^2$ ) de bondad de ajuste. Los promedios de todas las variables se analizaron mediante la técnica de análisis de conglomerados y componentes principales.

Los análisis indicaron diferencias para todas las variables ( $P \leq 0.01$ ); la variable GE, fue mejorada de manera significativa en la entremezcla de las dos fuentes de germoplasma (PE:AA), con valores que van de 96 a 99 %. Como se esperaba, la combinación de fuentes PE:AA presentó un efecto de enmascaramiento del fenómeno PE, el cual no se expresó en la  $F_1$  (proporción PE:AA de 50 %); también, de acuerdo a lo esperado, el fenómeno se hizo evidente cuando D alcanzó dosis mayores, *i.e.* 62.5, 75, 87.5 y 100 %. El análisis de regresión aportó evidencias de que la PE presente en D se relaciona con las dosis de germoplasma ( $P \leq 0.05$ ;  $R^2 = 87.2$ ). Los resultados de la  $X^2$  para probar la hipótesis de herencia monogénica, homocigótica recesiva en frecuencias de PE mostró diferencias ( $P \leq 0.01$ ) en  $F_2$  y  $RC_1$ ; por lo tanto, se rechaza la hipótesis de que la PE estuviera controlada por un gen, dos alelos homocigotos recesivos (3:1 en  $F_2$  y de 1:1 en  $RC_1$ ); esto, por que la frecuencia de PE en  $F_2$  fue de sólo 3.4 % y en  $RC_1$  de 25.1 %. Estos resultados requieren de plantear una hipótesis alterna, la cual pudiera ser un caso de interacción génica de dos loci, con epistasis doble dominante, de penetrancia incompleta.

Los valores para variables GC, PC y Lis se ubicaron en los intervalos 5.6 a 8.3 %, de 8.5 a 11 % y 2.2 a 4 g lisina/100 g de proteína, respectivamente; las poblaciones D y E fueron superiores (de 12 a 70 %) en GC al testigo de maíz común. El análisis de regresión lineal para GC con respecto a dosis fue significativo ( $P < 0.01$ ,  $R^2$  de 97 %) y mostró una relación lineal negativa cuando se aumentó la dosis de D. La comparación de medias (Tukey,  $\alpha = 0.05$ ) para GC en Filiales, Retrocruzas mostrando un efecto de dirección de cruce; además, tanto en Filiales como dosis de germoplasma, se observó una respuesta gradual relacionada a la proporción de germoplasmas PE:AA; este comportamiento es comparable a los casos históricos de herencia poligénica descrita por

East (1936). En este contexto, es probable que la genética que gobierna la concentración de aceite en el grano de estas poblaciones y genotipos agrupados en las dosis utilizadas, sea de herencia poligénica.

La concentración de PC determinada en este trabajo no se relacionó en ningún sentido con las dosis de germoplasmas. Por otra parte, el contenido de lisina no mostró diferencias estadísticas entre dosis intermedias; no obstante, éstas son 17 % superiores al progenitor de alto aceite (2.2 %); como se esperaba la población PE obtuvo el valor más alto (4 %), comparable al maíz QPM.

Las dosis óptimas (que combinan PE:AA) para calidad nutrimental en grano fueron las de combinación intermedias (Lis = 2.7 % y GC = 6.9 %), como puede apreciarse, es necesario que en estos genotipos se recupere la PE, ya que es ésta la que confiere valores más alto para Lis (de 3 a 4 %). Las dosis de germoplasmas probadas aquí son de valor genético, con potencial para generar variedades de maíz con calidad nutrimental Lis-AA.

**ABSTRACT**

**FORMACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE GRUPOS GERMOPLÁSMICOS  
DE MAÍZ, POLIEMBRIÓNICOS Y ALTO CONTENIDO DE ACEITE**

**POLYEMBRYONIC AND HIGH OIL MAIZE GERMPLASM GROUPS  
DERIVATION AND CHARACTERIZATION**

**BY**

**VÍCTOR MANUEL GONZÁLEZ VÁZQUEZ**

**DOCTOR DEGREE IN PLANT BREEDING**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO, DECEMBER, 2009**

**DR. JOSÉ ESPINOZA VELÁZQUEZ - - -advisor- - -**

Keywords: *Zea mays* L.; nutritional quality of grain, crude fat, lysine; polyembryony.

The specialty corns (*Zea mays* L.) include high oil materials, which represent an alternative to generate varieties of grain nutritional quality. On the other hand, polyembryony (PE) is another phenomenon of interest in maize for its ability to produce

two or more productive plants per seed, and that relates to high-quality protein and more oil content in grain than the common maize.

The main objective in this research was the merging germplasm of populations D, polyembryonic (PE) and E, a high oil (AA) in order to generate nine proportions PE: AA (doses 0, 12.5, 25, 37.5, 50, 62.5, 75, 87.5 and 100%) by means of filial and backcrossing with the goal of: i) to provide the germplasm base for the derivation of varieties of high nutritional quality of grain besides other qualities of agronomic and economic importance; ii) to identify the proportions of germplasm PE: AA conferring greater nutritional quality of grain, *i.e.* greatest concentrations of crude fat, crude protein and lysine; and iii) to locate the genotype the PE:AA dose that facilitate the possibility of a rapid recovery of polyembryony from the segregating genotypes.

The Response variables were: germination (GE) and polyembryony frequency (PE), under greenhouse conditions; and the crude fat, crude protein (GC, PC) and lysine (Lis) in laboratory. The treatments for the greenhouse variables and the ones for chemical analysis were handled in a completely randomized design with three replicates, except in the case of Lisine which was worked with two replicates. The data was analyzed through the proper ANOVA; a Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) test was applied when proceeds. A linear regression analysis was also applied in order to determine the dependence of the variables GC and PE with different proportions PE:AA germplasm. To test a possible Mendelian inheritance pattern for the PE trait, a goodness of fit chi-square test ( $X^2$ ) was applied. The means of all variables were analyzed by Cluster Analysis and the Principal Component analysis techniques.

The results indicated differences for all variables ( $P \leq 0.01$ ); GE was improved significantly in the intermixing of the two sources of germplasm (PE: AA), with values

ranging from 96 to 99%. The combination of PE:AA sources at the F<sub>1</sub> level submitted a masking effect of the PE phenomenon, but higher rates of D germplasm, *i.e.* 62.5, 75, 87.5 and 100% restored the presence of the trait. The regression analysis provided evidence that the PE present in D is related to germplasm proportions ( $P \leq 0.05$ ,  $R^2 = 87.2$ ). The  $X^2$  results, testing the hypothesis of Mendelian monogenic inheritance, for the PE frequency showed differences ( $P \leq 0.01$ ) in F<sub>2</sub> and RC<sub>1</sub> cases; therefore, the null hypothesis was reject (3:1 in F<sub>2</sub> and 1:1 in RC<sub>1</sub>).

The values for GC, PC and Lis variables were in the intervals 5.6 to 8.3%; 8.5 to 11%; and 2.2 to 4 g lysine/100 g protein, respectively; the populations D and E, were higher (from 12 to 70 %) for GC than the control (common maize). The linear regression analysis on GC doses effect was significant ( $P < 0.01$ ,  $R^2$  of 97%) and showed a negative linear relationship whenever D germplasm doses increased. The mean comparisons was also significant for GC in filials and back-crossings taking into account the cross direction; besides, both filials and PE:AA proportions it was observed a gradual response.

These behavior is comparable to the historical cases of polygenic inheritance described by East in (1936). In this context, it is likely that the genetic control of oil content in the seed in these populations and their generated proportions, groups in the seven different doses, could be of polygenic inheritance.

The PC concentration determined in this work was not related in any way with the proportions of germplasm. Moreover the lysine content has showed no statistical differences between intermediate doses, but these were 17% higher than the high oil parent (2.2%); as it was expected, the PE population was the highest in lysine content with a value of 4%, comparable to QPM maize.

The optimal ratios (PE: AA doses) for grain nutritional quality were in the intermediate combination (Lis = 2.7% and G = 6.9%); as it can be deduced, it is required to recuperate the PE condition in those intermediate genotypes because of this trait capability to concentrate the lysine amino acid in the seed (3 to 4 %). The germplasm proportions generated and tested here have the potential to be useful in the design of new maize varieties with an outstanding nutritional grain quality (Lis-AA).

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivos.....	3
Hipótesis.....	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
Maíces de Especialidad.....	5
Aceites en el Grano de Maíz.....	7
Calidad Proteica en Maíz.....	14
Poliembrionía (PE).....	19
Estudios sobre Poliembrionía en maíces del IMM-UAAAN..	23
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
Material Genético.....	28
Constitución de Dosis de Germoplasma.....	29
Trabajo en Campo.....	31
Calificación en Invernadero.....	31
Determinaciones químicas.....	32
Procedimiento Experimental de Laboratorio.....	33
Porcentaje de aceite.....	33
Cuantificación de proteína cruda.....	33
Determinación de lisina.....	34
Diseño y Análisis Estadístico.....	36
Análisis de Componentes Principales.....	37
Análisis de Conglomerados.....	38
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
Características de Invernadero.....	40
Calidad de Grano.....	44
Análisis de Componentes Principales.....	50
Análisis de Conglomerados.....	53
V. CONCLUSIONES.....	58
VI. RESUMEN.....	59
VII. LITERATURA CITADA.....	62
VIII. APÉNDICE.....	67

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>		<b>Pág.</b>
3.1	Genotipos generados en base a dosis de germoplasma partiendo de la F <sub>1</sub> directa (DxE = F) y reciproca (ExD = G).....	30
4.1	Cuadrados medios y significancia para las variables de interés en las poblaciones base D y E, sus cruzas y retrocruzas.....	39
4.2	Cuadrados medios y significancia considerando las nueve dosis de germoplasma PE:AA.....	40
4.3	Comparación de medias por dosis de germoplasmas PE:AA, para las variables de invernadero.....	41
4.4	Prueba de $X^2$ para la segregación de poliembrionía en la F <sub>2</sub> de la cruce entre D y E.....	44
4.5	Prueba de $X^2$ para frecuencia de poliembrionía observadas en la cruce de prueba con el progenitor D.....	44
4.6	Comparación de medias por dosis de germoplasmas PE:AA, para las variables GC, PC y Lis.....	45
4.7	Coefficientes de correlación de cada variable con los dos componentes principales.....	51
4.8	Características de invernadero y calidad de grano de grupos formados mediante el análisis de conglomerados.....	55
A 1	Comparación de medias, de las poblaciones base BAP y TAA, sus cruzas y retrocruzas; para las variables porcentaje de germinación (GE), poliembrionía (PE), plantas anormales (AN), grasa cruda (GC), y proteína cruda (PC).....	69

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Pág.</b>
2.1	Plántula poliembriónica de la población IMM-UAAAN-BAP, bajo condiciones de invernadero.....	20
4.1	Valores observados y predichos por regresión lineal simple, para la expresión de la PE en relación al incremento de dosis de germoplasma D en la combinación PE:AA.....	42
4.2	Valores observados y predichos por regresión lineal simple, para la relación de contenido de grasa cruda (GC) con el incremento de dosis de germoplasma PE.....	47
4.3	Respuesta del contenido de grasa cruda (GC) en filiales, comparadas con las poblaciones paternas (D, E) en grano completo de maíz. (D = Población Braquítica de Alta Poliembriónía, E = Población Tuxpeño de Alto Aceite, F = Dx E, G = Ex D, FF y GG = F <sub>2</sub> de F y G respectivamente, $\mu F_3$ = promedio de F <sub>3</sub> de F y G. Tukey ( $\alpha = 0.05$ ); barras con letras iguales no son estadísticamente diferentes.....	48
4.4	Valores medios para contenido de grasa cruda (GC) en retrocruzas directas y recíprocas en comparación con las poblaciones paternas (D, E) en grano entero de maíz. (D = Población Braquítica de Alta Poliembriónía, E = Población Tuxpeño de Alto Aceite, F = Dx E, G = Ex D, FF y GG = F <sub>2</sub> de F y G respectivamente, $\mu F_3$ = promedio de F <sub>3</sub> de F y G). Tukey ( $\alpha = 0.05$ ); barras con letras iguales no son estadísticamente diferentes .....	49
4.5	Valores medios para contenido de grasa cruda (GC) en poblaciones paternas (D, E) y diferentes dosis de germoplasma, en grano entero de maíz. (D = Población Braquítica de Alta Poliembriónía, E = Población Tuxpeño de Alto Aceite; las dosis indican el contenido de germoplasma de D). Tukey ( $\alpha = 0.05$ ); barras con letras iguales no son estadísticamente diferentes .....	50
4.6	Distribución de las variables en los dos primeros componentes principales (CP).....	52
4.7	Distribución de las variables en los dos primeros componentes principales (CP).....	53

4.8	Dendograma de agrupamiento de genotipos con base a características de invernadero y calidad de grano.....	54
A 1	Programa general de cruzas entre la población BAP (D) y TAA (E), filiales y retrocruzas.....	67

## I. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.), además del uso ancestral en la alimentación humana y pecuaria, se ha convertido también en una fuente de materia prima para la industria; estas aplicaciones requieren en la actualidad de maíces especializados, de acuerdo al uso que se pretenda, situación que genera un área de oportunidad para que los fitomejoradores diseñen y propongan opciones varietales hacía esas aplicaciones.

La producción comercial del maíz se orienta básicamente en tres tipos, el dentado de amplia utilización en la alimentación y procesos; los dulces, consumo humano y jarabes; y los denominados como maíces de valor agregado (value enhanced corn). La aplicación es variada, sea en el diseño de dietas balanceadas para animales o de amplio uso industrial y de calidad nutrimental para humanos.

El maíz de alto contenido de aceite (conocidos como maíces HOC, high oil corn) es una de las variantes hacia la industrialización del cereal, sea para aceites comestibles o dietas pecuarias. La tecnología actual para variedades alto aceite es reducida a los híbridos denominados “Top cross” utilizados principalmente en EUA. (Thomison *et al.* 2003). En México por otro lado, esta característica no se atiende debido, entre otras

cuestiones, a que no se cuenta con variedades comerciales de alto aceite (Coutiño *et al.* 2008).

Por otra parte, la poliembrionía (PE) es otro fenómeno de interés en maíz por su cualidad de producir dos o más plantas productivas, probablemente causado por la presencia de dos o más embriones por semilla; además de esta ventaja, se pueden agregar las de: reducción en la cantidad de semilla para siembra; más producción de materia seca; e incremento de la calidad nutrimental del grano (Pesev *et al.*, 1976; Rodríguez y Castro 1978; Castro, 1979; Espinoza *et al.*, 1998; y Musito *et al.*, 2008).

En este contexto, el Instituto Mexicano del Maíz “Dr. Mario E. Castro Gil” de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (IMM-UAAAN), ha generado dos poblaciones de alta frecuencia poliembriónica, denominadas UA-IMM-BAP (enana) y UA-IMM-NAP (altura normal), (Rodríguez y Castro 1978; Castro, 1979; Espinoza *et al.*, 1998; Musito *et al.*, 2008); estas poblaciones, además de alta poliembrionía, presentan características deseables como: alto contenido de aceite (5.5 a 6 %) y lisina (3 a 4 %); por otra parte, la colección de materiales del CIMMYT cuenta con una población que contiene aceites en niveles de 8-9 %, que es el caso de la población de alto aceite, Tuxpeño-AA, (Espinoza *et al.*, 1999; Valdez *et al.*, 2004, Valdez, 2005 ).

Es de interés de este trabajo utilizar los materiales: poliembriónica BAP y Tuxpeño-AA con la finalidad de aprovechar sus atributos de calidad proteica y contenido de aceites, superiores al maíz común, para integrar combinaciones de

germoplasma poliembriónico: alto aceite (PE:AA) que sirva como base para la generación de genotipos de utilidad en futuros trabajos de mejoramiento hacia la calidad nutrimental del grano.

## Objetivos

Constituir el germoplasma base para la derivación de variedades de alta calidad nutrimental del grano a más de otras cualidades de importancia agronómica-económica.

Identificar la dosis de germoplasma PE:AA que confieran la mayor calidad nutrimental de grano, i. e. mayor concentración de grasa cruda, proteína cruda, y lisina.

Ubicar las dosis de germoplasma PE:AA que presenten la posibilidad de una rápida recuperación de la poliembriónía.

## Hipótesis

Existe una correlación positiva entre poliembriónía y contenido de grasa cruda y lisina, por lo que la hibridación con una fuente de alto aceite puede incrementar la calidad del grano de los grupos que combinen diferentes dosis PE:AA.

La condición de semillas prolíficas (PE) en las poblaciones poliembriónicas del IMM-UAAAN, se comporta como si fuera un carácter recesivo de herencia mendeliana al cruzarse con fuentes no poliembriónicas, por lo que se tendrá una manifestación diferencial del fenómeno en las diferentes vías en que se generarán las diversas dosis de germoplasma i.e. filiales, retrocruzas y cruzas entre éstas.

## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **Maíces de Especialidad**

El mejoramiento de plantas se puede dividir en tres etapas: 1) domesticación y selección masal fenotípica; 2) selección en base a pruebas de progenie en ensayos (selección genotípica); y 3) el mejoramiento por la vía de transgénesis (producción de plantas transgénicas), que es una nueva era en el mejoramiento de plantas basado en la selección genotípica directa (llamado así por que el gen(es) de interés está ligado al marcador molecular). En EUA, desde 1996, las variedades transgénicas ofrecen nuevas soluciones para algunos problemas como son: resistencia a herbicidas no selectivos, resistencia a plagas y enfermedades así como maíces de alto valor agregado ([Lamkey y Lee, 2006](#)).

En México, la mayor utilización del maíz es como alimento ya sea de uso pecuario o humano, además en los últimos años se ha incrementado la utilización en procesos industriales, lo que ha generado la necesidad de contar con maíces especializados, de acuerdo al uso que se pretenda; lo que obliga a los mejoradores a trabajar para satisfacer nichos de mercado cada vez más especializados, por ejemplo, la industria aceitera, que

en agricultura por contrato puede pagar un sobre precio por los maíces de alto contenido de aceite, así como los criadores de pollo de engorda que pueden balancear dietas con mayor cantidad de energía (Feed & Grain, 1998); otra forma de maíz con valor agregado es el de alto contenido de almidón, que se utiliza ampliamente en la producción de etanol, ya que el almidón es la fuente de carbón para la producción de etanol (Clark *et al.*, 2006); o de la misma forma proveer a la población humana de escasos recursos un alimento enriquecido con grasa, proteínas e incluso vitaminas que puede ayudar a combatir la desnutrición humana presente tanto en países subdesarrollados como en vías de desarrollo, y por lo tanto una de las mejores alternativas para dar mayor utilidad a este cereal, es mejorando su calidad de grano (Lamkey y Lee, 2006).

De acuerdo con fuentes recientes, la composición nutrimental del grano de los híbridos típicos de maíz moderno contiene alrededor de 4 % de aceite, 9 % proteína, 73 % almidón y 14 % de otros constituyentes, principalmente fibra (Paliwal *et al.*, 2001 y Clark *et al.*, 2006). La calidad de grano puede ser mejorada por la alteración de los constituyentes primarios del grano anteriormente mencionados y así crear variedades más aptas para usos específicos (Clark *et al.*, 2006). Se denomina maíz de alta calidad o maíz de uso especializado a aquellas variedades a las cuales se les ha incorporado la capacidad genética para producir grano, con dosis superiores en cuanto a aceite, proteína y almidón; dependiendo del uso para el que se esté proponiendo dicha variedad.

El maíz especializado es una necesidad, primero para proveer alimento de mejor calidad nutrimental para el hombre y su ganado y segundo para generar materia prima adecuada para los diferentes procesos industriales. La utilización de híbridos transgénicos y la tecnología TopCross en los países desarrollados ha tenido éxito, sin embargo en México solo el 20.3% de la superficie de maíz es sembrada con germoplasma mejorado y dentro de ese porcentaje, el 73% son variedades de polinización libre (CIMMYT, 2009), por lo que es deseable que el productor mexicano cuente con variedades de alta calidad.

### **Aceites en el Grano de Maíz**

Dentro del amplio espectro de usos que puede tener el maíz especializado, se encuentra el de maíces de alto contenido de aceite, área en la que la referente más conocida a nivel internacional son las poblaciones IHO y la ILO de alto y bajo aceite de Illinois por sus nombre en ingles (Illinois High Oil y Illinois Low Oil) donde, después de 104 ciclos de selección la media de aceite incrementó de 47 a 206 g kg<sup>-1</sup> (4.7 a 20.6 %) para el IHO sin una aparente reducción en la respuesta a la selección, y la media para el ILO decreció a menos de 10 g kg<sup>-1</sup> (1 %) después de 87 ciclos de selección, el experimento con el ILO fue terminado después de 89 ciclos por contener cantidades de aceite tan bajas que era muy difícil su cuantificación (Dudley y Lambert, 1992; y Lambert, 2001; Clark *et al.*, 2006). Sin embargo la referente de maíz comercial de alto contenido de aceite es el TopCross de DuPont que es ampliamente utilizado en los

Estados Unidos de América y el cual se caracteriza por contener de 7.2 a 8.2 % de aceite en grano (Thomison *et al.*, 2003).

En México, el estudio y desarrollo de variedades de alto contenido de aceite ha sido limitado, por lo que aún no existen en el mercado nacional, variedades comerciales con alto contenido de aceite (Coutiño *et al.*, 2008), estos autores realizaron un programa de mejoramiento de selección recurrente de familias de medios hermanos para incrementar el contenido de aceite en maíz comiteco, después de dos ciclos de selección, encontraron, que el contenido de aceite se incrementó de 3.7 C<sub>0</sub> a 4.07 % C<sub>2</sub> ( $P \leq 0.05$ ), pero el contenido de proteína disminuyó con la selección.

El maíz HOC (high oil corn) debe su alto contenido de aceite al incremento en la porción del germen de grano; también hay un incremento correspondiente de 0.38% en proteína por cada incremento de 1 % en aceite. Un incremento de 1 % en la concentración de grasa cruda resulta por lo general en una disminución de 1% de almidón. El aumento en la fracción del germen a costa del endospermo, mejora la calidad de la proteína del todo el grano de HOC. Las variedades HOC contienen entre 6 y 8 % de aceite, y 8 % de proteína cruda (Feed & Grain, 1998; Thomison *et al.*, 2003).

Un caso especial de maíces de alto contenido de aceite lo presenta Valdez, (2005), donde al realizar un análisis bromatológico en dos poblaciones poliembriónicas del

IMM-UAAAN, denominadas Normal de Alta Poliembriónía (IMM-UAAAN-NAP) y Braquítica de Alta Poliembriónía (IMM-UAAAN-BAP), encontrando alrededor de 6 % de aceite en el grano, una relación de ácidos grasos oléico/linoléico muy cercana a uno (0.98 en promedio), calidad que fue estadísticamente superior a la presentada por la población Tuxpeño Alto Aceite de CIMMYT, la cual presentó una relación oléico/linoléico de 0.86.

En Los Estados Unidos de América, los avances en técnicas moleculares también han sido aplicadas en la selección de genotipos con alto contenido de aceite, un ejemplo de relevancia es el trabajo realizado por [Clark \*et al.\*, \(2006\)](#), donde se han identificado al menos 40 loci de características cuantitativas (QTL's) para concentraciones de aceite, proteína y almidón, los cuales tienen efecto pequeño e implicaciones en las estrategias de mejoramiento en la composición química del grano. Encontraron también correlaciones entre los QTL's que sugieren la posibilidad de desarrollar líneas de alto aceite y proteína simultáneamente.

En esta misma línea, estudios realizados por [Wassom \*et al.\*, 2008](#), trabajando con materiales derivados de maíz de alto aceite de Illinois (Illinois High Oil), y utilizando marcadores moleculares y análisis de QTL; desarrollaron un mapa genético con 110 marcadores, el cual explicó 46.9, 45.2, 44.3 y 17.7 % de la varianza genética para aceite, proteína, almidón y peso del grano respectivamente en la retrocruza uno (RC<sub>1</sub>) hacia una línea de maíz común. También de relevancia es el hecho de que la introgresión de

estos QTL en las líneas incrementa el aceite y mantienen el rendimiento. Lo que es de gran utilidad ya que el maíz Illinois High Oil, puede ser utilizado como fuente de germoplasma de alto aceite y con la asistencia de marcadores moleculares se podría seleccionar únicamente las líneas portadoras de estos QTL y así ahorrar una gran cantidad de trabajo y recursos en la selección de líneas.

El aceite del grano de maíz está fundamentalmente en el germen y está determinado genéticamente, con valores que van del 3 al 18 por ciento (FAO, 1992). Los aceites (lípidos) se han clasificado de varias formas; la más satisfactoria es la que se basa en la estructura de sus esqueletos de carbono y se definen como sigue: (1) Lípidos complejos, los cuales se caracterizan por que contienen ácidos grasos como componentes; comprenden a los acilglicéridos, los fosfoglicéridos, los esfingolípidos y las ceras. Reciben también el nombre de lípidos saponificables porque producen jabones (sales de ácidos grasos) por hidrólisis alcalina; (2) lípidos sencillos, que son los que no contienen ácidos grasos y no son por tanto, saponificables, comprenden a los terpenos esteroides y las prostaglandinas (Mertz, 1989).

Aunque los ácidos grasos (AG) se encuentran en células y tejidos en cantidades muy grandes como componentes fundamentales de los lípidos complejos, en estado libre aparecen solamente en trazas. Se han aislado unas 100 clases diferentes de ácidos grasos procedentes de diversos lípidos de animales, vegetales y microorganismos. Todos ellos poseen una cadena hidro-carbonada larga con un grupo carboxilo terminal, y difieren

entre sí por: a) la longitud de la cadena de carbono, b) presencia o no de dobles enlaces, y c) configuración de los dobles enlaces; los AG más abundantes son aquellos que contienen de 16-18 carbonos en estructura abierta.

Se consideran ácidos grasos esenciales a los que se precisan en la dieta de mamíferos. El ácido graso esencial más abundante en los mamíferos es el ácido linoléico, que integra del 10 al 20% de los ácidos grasos totales de sus triacilglicéridos y fosfoglicéridos. Los ácidos grasos esenciales insaturados incluyen los mono-insaturados, con una doble ligadura en la cadena de carbonos, y los poli-insaturados, que tienen dos o más dobles ligaduras en alguna parte de la cadena de carbonos. De los mono-insaturados el más importante es el ácido oléico. Dentro de los ácidos grasos poli-insaturados están los omega 6 y los omega 3, que son esenciales y deben ser aportados por la dieta. El ácido linoléico es el precursor de los ácidos grasos omega 6 y el ácido  $\alpha$ -linolénico lo es de los ácidos grasos omega 3 (Amadori, 1989).

Existe una considerable variación en el contenido de aceite en el genoma del maíz donde la mayor parte está contenido en el embrión, ocupando el 33.2 % del mismo (Dale, 1997; Paliwal *et al.*, 2001). Los triacilglicéridos son el componente mayoritario del aceite de maíz, estos contienen una mezcla de AG saturados e insaturados; La composición media de ácidos grasos del aceite de maíz tiene un bajo nivel de ácidos grasos saturados: ácido palmítico (16:0) y esteárico (18:0), 11.2 y el 2 %, respectivamente. En cambio, contiene niveles relativamente elevados de ácidos grasos

poliinsaturados, fundamentalmente ácido linoléico (18:3), 58.8 %, ácido oléico (18:1), 25.9 % y cantidades reducidas de ácidos linolénico (18:3), 1.3 % y trazas de araquidónico (20:0) y otros ( [Paliwal et al., 2001](#); [Lambert, 2001](#); [Thomison et al., 2003](#)).

Por otro lado el maíz de alto aceite (AA) contiene 11.6 % palmítico, 2.5 % esteárico, 34.6 % oléico, 49.5 % linoléico y 1 % otros ([Thomison et al., 2003](#)) Además, el aceite de maíz es relativamente estable, por contener únicamente pequeñas cantidades de ácido linolénico (0,7 por ciento) y niveles elevados de antioxidantes naturales ([FAO, 1992](#)).

Generalmente, se acepta el aceite de maíz como de alta calidad cuando el contenido del AG oléico es superior al reportado en el maíz común, por lo que puede mejorarse la calidad del aceite por el incremento en la concentración de ácido oléico ([Wassom et al., 2008](#)). El ácido oléico contribuye a aumentar en el organismo los niveles de lipoproteínas de alta densidad HDL (colesterol bueno); estas lipoproteína se encargan principalmente de retirar el exceso de colesterol malo de los tejidos, equilibrando de esta forma la alimentación, además el ácido oléico representa una fuente de energía asimilable, es de fácil digestión, y aumenta la secreción de hormonas digestivas y la de ácidos biliares ([Manthey, 2002](#)).

En trabajos relacionados a la herencia de los ácidos grasos oléico y linoléico presentes en el grano de maíz, [Windstrom y Jellum \(1984\)](#) informan de una correlación negativa entre ellos y que los genes que controlan su composición se localizan en el brazo largo del cromosoma 5; también encontraron indicios de que existen genes que controlan el ácido linoléico en el brazo corto del cromosoma 4, y en el corto del cromosoma 1.

Por otro lado, un estudio realizado por [Wright \(1995\)](#), se encontró una mutación en la variedad B73 SME mejorada, que aumenta la concentración del ácido oléico en la semilla de maíz. Esta mutación (designada *Olc1*) tiene un efecto parcialmente dominante. Las concentraciones del ácido oléico en los no mutantes B73, heterocigoto *Olc1* y homocigoto *Olc1* son aproximadamente 27% y 35% respectivamente y de 52% en la F<sub>2</sub> del mutante B73. Las translocaciones indican que el gen *Olc1* se localiza en el brazo largo de cromosoma 1.

El maíz de alto contenido de aceite (AA), se está utilizando en los Estados Unidos de América, porque contiene de 1 a 2 veces más aceite, así como proteínas de alta calidad que el maíz amarillo normal ([Paul, 2002](#)). Siendo atractivo como alimento para ganado porque el contenido calórico del aceite es 2.25 veces mayor que el del almidón en base a peso y estudios realizados en alimento para ganado mostraron una mayor proporción de ganancia en peso (> 7 %) en alimento preparado con maíz de alto contenido de aceite comparado con el maíz normal y puede reemplazar a otras fuentes

dietéticas más caras (Lambert, 1994; Lambert *et al.*, 2004). Sin embargo su potencial de rendimiento es bajo comparado con el maíz normal (Paul, 2002).

La información aquí presentada, es consistente debido a que tanto el contenido de aceite como de proteína en el grano de maíz puede ser de herencia poligénica y que la utilización de marcadores moleculares ha permitido ubicar a ciertos QTL's involucrados en el mejoramiento de la calidad del grano en cuanto a aceite y proteína se refiere; también es relevante el hecho de tener ubicados a los genes que influyen sobre los ácidos grasos oléico y linoléico, los cuales se localizan en al menos tres cromosomas del genoma del maíz. Así mismo la poliembriónía, es un fenómeno que nos puede permitir aprovechar los contenidos de aceite presente en las poblaciones IMM-UAAAN-NAP y IMM-UAAAN-BAP para constituir grupos genéticos de alto contenido de aceite, que deriven en la conformación de variedades especializadas.

### **Calidad Proteica en Maíz**

La mayor parte del maíz producido en el mundo es utilizado para alimentación humana y pecuaria; sin embargo, se considera que el maíz es un cereal de pobre calidad nutricional en cuanto a proteína. Aún cuando el maíz común contiene valores de 4 – 10 % de proteína, ésta es de pobre valor nutricional comparada con la proteína de origen animal (Lamkey y Lee, 2006). La deficiencia es el resultado de un desbalance de

aminoácidos, bajo contenido proteínico ([Azebedo et al., 2006](#)) y deficiente en dos aminoácidos esenciales: Lisina y Triptófano ([Huang et al., 2004](#)).

Las proteínas son el resultado de distintas combinaciones de los veinte aminoácidos naturales; los aminoácidos se unen en largas hileras o cadenas, mantenidas por enlaces peptídicos. Para sintetizar sus proteínas esenciales, cada especie necesita disponer de los veinte aminoácidos, los cuales se clasifican en esenciales y no esenciales; estos últimos pueden ser sintetizados por el organismo, y los esenciales son aquellos que deben de ser necesariamente incluidos en la dieta de humanos, como: triptófano, lisina, valina, fenilalanina, treonina, metionina, leucina, isoleucina. Las plantas pueden fabricar sus aminoácidos a partir de nitrógeno, dióxido de carbono y otros compuestos por medio de la fotosíntesis ([Lehninger, 1981](#)).

En los maíces comunes, el endospermo comprende cerca del 84% del peso seco del grano, el embrión abarca el 10% y el pericarpio y el escutelo componen el restante 6%. El endospermo del grano de maíz es la zona más importante de almacenamiento de los carbohidratos y de las proteínas sintetizadas por esta especie fotosintéticamente eficiente; por lo general, la proteína en el grano del maíz se encuentra contenida principalmente en el endospermo, 75-85% de la proteína total, y en el embrión 15-20% ([FAO, 1993](#)).

Los programas de mejoramiento genético para proteína, son orientados para mejorar la calidad proteica más que para incrementar el porcentaje de proteína en el grano. La referencia a nivel mundial en cuanto a calidad de grano, es el programa de

selección divergente para concentración de aceite y proteína en el grano de maíz, iniciado en la Universidad de Illinois en 1896 por C. G. Hopkins. Después de 105 generaciones en estas poblaciones se ha demostrado que la selección sigue siendo efectiva (Dudley, 2007); este mismo autor informa de los contenidos de proteína para la generación 70, donde, la población Illinois High Protein (IHP) y a la población Illinois Low Protein (ILP) presentan valores de 266 y 44 g kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

El descubrimiento del efecto químico del mutante *Opaco-2* (*o2*) en la composición de la proteína de maíz realizado por Mertz *et al.* (1964). Llevó a un renovado interés y a un esfuerzo para mejorar la calidad nutricional de la proteína del maíz. Debido a que la calidad proteínica del maíz puede ser mejorada por el remplazo del alelo *Opaco2* por el alelo recesivo no funcional (*o2*), los granos con el homocigoto *o2* presentará un aumento cerca del doble en los niveles de los aminoácidos esenciales lisina y triptófano. Desafortunadamente, el gen *o2* trajo consigo varias deficiencias fenotípicas inherentes: bajo rendimiento, una textura blanda del endospermo y susceptibilidad a plagas y enfermedades tanto en campo como en almacén (Vasal 1994; Gutiérrez-Rojas *et al.*, 2008). Estos defectos han sido eliminados por medio de cruzamientos y por la acumulación de genes modificadores adecuados los cuales han resultado en un grano con un aspecto muy similar a los maíces duros o dentados, con buen rendimiento y que retienen el gen *o2* y sus efectos positivos sobre la calidad de la proteína, llevando al triptófano a niveles de 1 % y la lisina a 4 % (Vasal, 1994).

Un progreso en el desarrollo de germoplasma de maíz de alta calidad de proteica con altos rendimientos comparable al del maíz normal se obtuvo por medio de grupos de genes de maíces con proteínas de calidad, poblaciones y variedades de polinización abierta por su adaptación a distintas condiciones, y líneas endocriadas con buena aptitud combinatoria para la producción de híbridos de maíz de proteínas de calidad que pueden fortalecer el cultivo y la producción de este tipo de maíces (Magnavaca *et al.*, 1989; Bjarnason y Vasal, 1992; Vasal, 1994).

Pixley y Bjarnason (1993) reportaron sobre los resultados de ensayos de cuatro dialélicos con 28 líneas de maíz de proteínas de calidad derivadas de cinco poblaciones. En estos ensayos los mejores híbridos de proteínas de calidad dieron un rendimiento promedio de grano 14% superior a los mejores testigos; la concentración de triptófano en el grano aumentó en 48% y su concentración en las proteínas se incrementó en 60% a los cuales denominaron QPM por sus siglas en inglés (Quality protein maize).

En México, diversas instituciones de investigación también han desarrollado genotipos de alta calidad proteínica (QPM), como son los maíces liberados por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) y por el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT); los cuales de acuerdo con los análisis de los aminoácidos que contienen son más ricos en lisina y triptófano (Vázquez *et al.*, 2005); y de acuerdo con estos autores, los contenido de lisina en maíces QPM, no se afecta por el manejo agronómico. En otro trabajo con maíces

QPM realizado por [Mendoza et al., \(2006\)](#), reportan valores de proteína de 10.31 a 10.93 %, mientras que la lisina varió de 1.6 a 2 g lisina/100 g de proteína, para variedades del maíz normal blanco y de 2.3 a 3.6 g /100 g de proteína para los QPM.

Por otro lado [Vidal et al., \(2008\)](#) determinó la calidad proteínica en colectas de maíces criollos de la sierra de Nayarit, México, reportan valores de lisina para las mejores grupos de 3.52 a 3.65 g de lisina/100 g de proteína y triptófano de 0.551 a .684 g triptófano/100 g de proteína, por lo que los autores concluyen que la calidad proteínica de dichos maíces es nutricionalmente aceptable, ya que los contenidos de lisina y triptófano son comparables a los maíces QPM.

Un fenómeno poco frecuente pero observable en maíz es la condición de dos o más embriones, fenómeno estudiado por diversos autores ([Sharman, 1942](#); [Morgan & Rappleye, 1951](#); [Erdelska, 1996](#); [Espinoza et al., 1998](#); [Musito et al., 2008](#)), y que se ha relacionado con incrementos en la calidad de grano ([Pesev et al., 1976](#); [Espinoza et al., 1999](#)). En este sentido la calidad proteica del grano de la población poliembriónica IMM-UAAAN-BAP, es apreciable y presentan valores de Lisina de 4.6 y triptófano 0.5 g por 100 g de proteína ([Valdez, 2005](#)).

La utilización del maíz como alimento básico en la dieta de los mexicanos, refuerza la necesidad de mejorar la pobre calidad proteica de este cereal. La información

aquí presentada resume el trabajo clásico de mejoramiento por selección recurrente y también el uso de genes mayores que confieren mejor calidad proteica a los genotipos mejorados. El fenómeno de PE se ha documentado y dentro de los atributos encontrados es una buena calidad proteica con altos niveles de lisina en los genotipos que la exhiben.

### **Poliembrionía (PE)**

El fenómeno de poliembrionía en maíz es un carácter genético que imparte la capacidad de producir semillas poliembriónicas y con alta calidad nutritiva (Musito *et al.*, 2008). Fenómeno que se puede definir como la emergencia de dos o más embriones de un ovulo o huevo, lo cual se puede observar directamente en pruebas de germinación con la emergencia de varias plantas nacidas de manera simultanea a partir de una sola semilla (Figura 2.1).

La PE puede observarse en varias especies de angiospermas y gimnospermas (Martínez y Gradziel, 2003) y ha sido documentada por largo tiempo en maíz (Sharman 1942; Morgan & Rappleye 1951; Erdelska 1996); una revisión detallada del fenómeno la presentó Webber (1940), este autor, clasifica a la PE como : a) *Poliembrionía esporofítica*, aquí los embriones se forman de las células de la nucela o del integumento, las cuales se dividen y se desarrollan dentro del saco embrionario, produciendo uno o varios embriones; para el desarrollo de los embriones esporofíticos es necesario el estímulo de la polinización y fertilización de la estructura reproductiva; b) *Poliembrionía segmentada (cleavaje)*; este tipo de PE es resultado de la separación o

división del cigoto o embrión joven en dos o más unidades, cada uno de los cuales se desarrolla en embriones por separado aunque físicamente cercanos. Los embriones segmentados son monocigóticos de origen, por lo que las plantas resultantes son idénticas.



Figura 2.1. Plántula poliembriónica de la población IMM-UAAAN-BAP, bajo condiciones de invernadero.

Este autor también incluye otros tipos de PE como son: c) *Poliembrionía simple*; en gimnospermas, la PE se debe a la formación de huevos múltiples a partir de una megaspora, quienes se unen con el núcleo generativo proveniente del polen. Aunque la producción de más de un huevo u óvulo puede atribuirse a segmentación, es probable también que el caso de los embriones extras se deba a las sinérgidas, fecundadas por un

núcleo generativo extra; *d) Poliembrionía euploide*; incluye a los embriones múltiples que dan lugar a plantas monoploides y euploides, reportado en varios géneros de plantas, mayormente en gramíneas; los casos más comunes en este tipo de PE son los pares diploide-diploide.

[Webber \(1940\)](#) también, separa el fenómeno como; *e) Poliembrionía Verdadera y falsa*; cuando se producen varios embriones dentro del saco embrionario se designa como poliembrionía verdadera, y por otro lado, la falsa poliembrionía es la producción de embriones derivados de varios sacos embrionarios; en este caso, los embriones se derivan de: 1) megasporocitos de diferente nucela; 2) dos o más megasporocitos, megasporas hermanas en la misma nucela, y 3) el megasporocito normal y aposporio de la misma nucela.

De acuerdo con [Sharman \(1942\)](#) y [Pesev et al. \(1976\)](#), los reportes científicos del fenómeno PE en maíz, data de los años veinte (Siglo XX) cuando se encontraron plantas dobles provenientes de semillas individuales, las cuales se denominaron como plantas gemelas.

Los tipos principales de PE en maíz, detectados a partir de un análisis histológico, está en función del origen de los embriones, su localización en el grano, diferencias en su estructura (tejidos comunes), y el tipo de germinación ([Erdelska, 1996](#)). De acuerdo con este autor, la PE se origina de tres maneras: embriones pares que provienen de sacos embrionarios múltiples, se ubican en lados opuestos, o a distancia, en el grano, carecen de tejidos comunes y germinan independientemente; casos de gemelos o triples que

proviene de células huevo individuales del saco embrionario o de células con capacidades multi-huevo, están estrechamente adheridas, pero estrictamente separados por capas epidérmicas; con un endospermo en común; las plúmulas y radículas son independientes; y el caso de los poliembriónes originados por multiplicación de la célula huevo (cleavaje), en vivo y de manera espontánea o después de alguna inducción, comparten un suspensor común, parte del escutelo y capas superficiales de radícula; por ello, los embriónes germinan con plúmulas separadas pero un solo complejo radicular.

Un caso de poliembriónía forzada es el reportado por [Morgan y Rapplee \(1951\)](#), quienes informan de plantas múltiples obtenidas de semilla provenientes de cruzamientos de líneas puras con polen expuesto a varias dosis de irradiación con rayos X (600r, 2600r y 3720r); la PE observada aquí fue de 1.6%, 12.7%, y 18.1%, respectivamente. Los autores informan que la radiación no causó daño en número de cromosomas, observando siempre la dotación completa de 20 cromosomas.

Otra causa de PE fue descrita por [Hallauer y Miranda \(1981\)](#) y se refiere a una mutación recesiva designada “gametofito indeterminado” (*ig*) y afecta al saco embrionario de los homocigotes; algunos de los efectos de este gen son: esterilidad masculina, 50% de casos en plantas *igig*; plantas abortivas o defectuosas, 25% de plantas *Igig*; poliembriónía en 6% de semillas, endospermo normal, que recibieron el gen *ig* de madres *Igig* o *igig*; y monoploidía en el 3% de los casos de cruces con madres *igig*. De este modo, el gen *ig* también ocasiona la pérdida de las funciones normales en el desarrollo del gametofito femenino.

[Pesev et al., \(1976\)](#) informan de dos poblaciones de maíz que presentan el carácter PE en frecuencia inicial de 3.1%, observadas en el Instituto Yugoslavo del Maíz en los años 1963-1964, a partir de los cuales se desarrolló un programa de selección para el carácter y la formación de líneas endogámicas; los resultados en 10 años de trabajo se presenta a través de 12 líneas endogámicas, cuya frecuencia PE varió de 2.1% a 25.3%, con superioridad de estas semillas en contenidos de proteína y grasa cruda, así como lisina, al compararlos con el maíz común.

### **Estudios sobre Poliembrionía en maíces del IMM-UAAAN**

El estudio y manejo de plantas de maíz doble embrión o “gemelas”, (denominación vigente de 1973 a 1995), o poliembriónicas, denomina así de 1996 a la fecha, por que las hay de 2 y hasta 7 plántulas por semilla, ha sido una línea de investigación en el Instituto Mexicano del Maíz “Dr. Mario E. castro Gil” de la Universidad autónoma Agraria Antonio Narro. El objetivo inicial fue generar poblaciones con alta frecuencia de PE. [Castro \(1973\)](#) reporta el carácter doble embrión encontrado en el compuesto 301-SSE (Selección Súper Enana) en frecuencia aproximada de 2%, formado por cruza de plantas de tallo cuadrado con una población segregante para  $br_2br_2$  con 75% de germoplasma de la variedad Puebla grupo 1 y 25% de Tuxpeño braquíptico ([Castro, 1973](#); [Valdez, 2005](#)).

Las plantas gemelas iniciales formaron la semilla base para integrar una población de maíz sobre la cual iniciar el estudio y la selección del carácter doble embrión. [Rodríguez y Castro \(1978\)](#) informan la aplicación de métodos de selección y la

determinación de la heredabilidad del carácter doble embrión. Formaron tres grupos sintéticos, dos de ellos con plantas gemelas y el tercero con no-gemelas, obteniendo por selección un aumento de 4.012% a 11.43% en los dos primeros, y de sólo 4.012% a 5.011% en el tercero.

Siguiendo avances en el tema, [Castro \(1979\)](#) señala que en el cuarto ciclo de selección hacia mayor PE se continuó el método de cruzas dobles crípticas entre los dos primeros sintéticos para hacer uno solo. En este ciclo, la PE alcanzó 33.28%. La regresión progenie-progenitor promedio se calculó en  $P_{op} = 0.65$ , lo que indica que el carácter se debe a genes de acción aditiva.

Una recapitulación de los avances en el tema de plantas gemelas en el IMM-UAAAN lo presenta [Rodríguez \(1981\)](#), que al analizar la información hasta el cuarto ciclo de selección recurrente hacía mayor PE, para incrementar los genes que condicionan el carácter doble embrión; concluye que el carácter es altamente heredable ( $0.77+0.08$ , mediante la regresión progenie progenitor medio), señalando también que las dos plantas resultantes de las semillas con doble embrión son gemelas genéticamente idénticas en base a la reducida varianza fenotípica que presenta dentro de los pares de plantas.

[Gómez \(1983\)](#), continuó el programa de selección recurrente en la población de maíz doble embrión para incrementar la frecuencia del carácter “doble embrión”, concluyendo que la frecuencia aumentó a 46.6 % para el sexto ciclo de selección.

[Espinoza et al., \(1998\)](#) señalan que a partir de 1992, la población base de gemelas se dividió en dos sub-poblaciones: una de porte enano y la otra de porte normal; el manejo reproductivo aplicado en ellas es, desde entonces, a través de cruza fraternales con mezcla de polen. En un ciclo determinado, se seleccionan en campo de 200 a 300 familias de medio hermanos (FMH), las cuales se evalúan posteriormente bajo condiciones de invernadero, sembrando 50 semillas por FMH en cajas de germinación; las mejores 30 a 40 FMH con respecto a germinación y frecuencia PE son las familias que constituyen los progenitores del siguiente ciclo. Los autores señalan que la frecuencia PE tanto en enanas como normales llegó y superó 60% para 1996.

Estos autores también señalan que en 1995, a partir de cada una de las dos poblaciones de alta PE (enana y porte normal) iniciaron un proceso de selección reversa, generando así dos sub-poblaciones en proceso de reducción de la PE, y que constituyen los grupos control de alta PE.

Siguiendo el proceso de selección directa y reversa en las sub-poblaciones del IMM-UAAAN, [Espinoza y Vega \(2000\)](#) informan que en el periodo 1995 a 2000 la selección a favor de la PE tiene ganancia entre 2 y 3% por ciclo, llevado a las poblaciones poliembriónicas a niveles superiores a 60 % de PE; mientras que la selección reversa (en contra de la PE) lleva a los grupos a frecuencias PE menores de 6%, agotando prácticamente la condición PE en ellas; este comportamiento asimétrico en la respuesta a la selección es común en casos como el que se aborda.

Un estudio de combinación de germoplasma PE con una fuente no poliembriónica (No-PE), indica un enmascaramiento del fenómeno PE en la  $F_1$  de la combinación de las poblaciones poliembriónicas (NAP y BAP del IMM-UAAAN) con la población Tuxpeño-HOC de CIMMYT (González *et al.*, 2006). Continuando con esta línea experimental Espinoza *et al.*, (2008) informan sobre los probables mecanismos genéticos que intervienen en la expresión de la PE; al analizar las frecuencias de PE observada en  $F_2$  y  $RC_1$  encontraron que la frecuencia de PE no se ajusta a la esperada en el caso de un gen recesivo.

Un informe más reciente sobre el fenómeno PE lo hacen Musito *et al.*, (2008) quienes trabajaron con líneas  $S_1$  derivadas de la población PE NAP, y encontraron que la endogamia de las líneas  $S_1$  redujo los valores de las características evaluadas y no produjo incremento en la poliembriónia.

Por otro lado Alcalá (2009), al realizar un estudio histológico de radícula de tres días post-germinación, con dos poblaciones poliembriónicas IMM-UAAAN-NAP y IMM-UAAAN-BAP, y su combinación con la población Tuxpeño-HOC de CIMMYT; el autor encontró que la frecuencia de PE y de radículas múltiples (dos o más raíces por semilla) se presentó en el orden de 60 y 14% respectivamente; mas ésta característica se vio enmascarada en híbridos  $F_1$  con Tuxpeño, manifestándose de este modo la PE como un carácter recesivo. También informa, sobre al menos tres diferentes versiones de radículas múltiples individualizadas o con cierto grado de fusión exclusivos de genotipos PE.

Las características químicas del grano de las poblaciones poliembriónicas IMM-UAAAN-NAP, y BAP para contenidos de grasa cruda (GC) en semillas completas, mostraron una media general de GC= 6.2% (Valdez, 2005); esto puede atribuirse a que la poliembriónía tiene una correlación positiva con concentración de lípidos en el grano. La superioridad cuantitativa en GC de los maíces PE puede ser también cualitativa al incluir más lípidos de origen embrionario por la condición de que el 65% de los granos de una mazorca tienen dos o más embriones (González *et al.*, 2006 y 2008). Esto permite suponer que la selección a favor de poliembriónía favorece de manera indirecta incrementos en la calidad de grano, condición que se podría aprovechar en el diseño de nuevas variedades de maíz poliembriónico, que combinen alto rendimiento y calidad.

En resumen, el fenómeno de poliembriónía en maíz se ha documentado, primero por la presencia de plantas múltiples nacidas simultáneamente; y con estudios citológicos que lo han demostrado. El tipo de herencia puede estar determinado por genes mayores o por genes de naturaleza cuantitativa. Además la presencia de dos o más embriones por semilla le da ventaja a estos genotipos en cuanto a calidad nutritiva del grano.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

La investigación consistió de tres etapas: a) Formación de híbridos entre las dos poblaciones básicas (F1, filiales F<sub>2</sub> y F<sub>3</sub>) y retrocruzas (RC<sub>1</sub> y RC<sub>2</sub>); b) calificación en invernadero relativas a las variables porcentaje de germinación (GE), poliembrionía (PE) y plantas anormales (AN) de los genotipos generados en el punto anterior y; c) análisis químico de contenidos en grano completo de grasa cruda (GC), proteína cruda (PC) y el aminoácido lisina (Lis) en los genotipos involucrados.

#### **Material Genético**

Fueron utilizadas dos poblaciones poliembriónicas desarrolladas por el Instituto Mexicano del Maíz “Dr. Mario E. Castro Gil” de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (IMM-UAAAN), una de porte enano, denominada IMM-UAAAN-BAP (en lo sucesivo D); la segunda de porte normal IMM-UAAAN-NAP (en lo sucesivo C), las cuales han sido mejoradas por selección recurrente de 1973 a 1991 y por medio de cruza fraternal con mezcla de polen de 1991 a la fecha (Espinoza *et al.*, 1998; González *et al.*, 2008). Actualmente, ambas poblaciones se caracterizan por presentar

una frecuencia de PE de 65 % (González *et al.*, 2006), alta competitividad de las plantas hermanas *in-situ* además de sus vecinas, y calidad físico-química sobresaliente del grano, con contenidos de grasa cruda (GC) de 6.5 y 6 % para D y C respectivamente, además de una relación de los ácidos grasos oléico (OL) y linoléico (LI) muy cercana a uno para ambas poblaciones  $OL/LI = 0.98$  en promedio (Valdez *et al.*, 2004; Valdez, 2005).

La tercera población básica utilizada es la Tuxpeño-HOC (Origen :“TL.01B, 6250-04, HIGH OIL. C13”) de CIMMYT seleccionada para alto contenido de aceite (en lo sucesivo E), la cual al ser analizada se encontró que contiene 8.95 % de grasa cruda en el grano (Valdez *et al.*, 2004).

### **Constitución de Dosis de Germoplasma**

El estudio involucra el cruzamiento entre D y E, directa y recíproca ( $D \times E = F$  y  $E \times D = G$ ); las filiales de cada una de ellas ( $F_2$  y  $F_3$ ) y un sistema de retrocruzas ( $RC_1$  y  $RC_2$ ) hacia ambos progenitores en forma directa y recíproca que permitió generar dosis de germoplasma que combinan PE y alto aceite (AA) con distancias de 12.5 % de 0 a 100 %.

Las dosis fueron generadas por diferentes vías, combinando a los tres tipos de materiales (poblaciones, Filiales y retrocruzas), por lo que se tiene un número variable de genotipos con la misma dosis; e.g. la ruta para lograr la dosis de 75:25 por ciento, PE:AA, genera cuatro genotipos que se logran con la utilización de las  $F_1$ 's ( $D \times E$ ,

denominada “F” y E x D, denominada “G”) en retrocruza hacia la población Braquítica de alta Poliembrionía (D), directa y reciproca; por lo tanto, son cuatro los genotipos obtenidos para esta dosis.

El manejo del germoplasma poliembriónico (PE) y alto aceite (AA) practicado en este trabajo permitió la formación de 48 genotipos que se agrupan en nueve dosis de germoplasma, las cuales incluyen la entremezcla de germoplasma PE:AA en siete diferentes dosis de germoplasma y las dos poblaciones base (**Cuadro 3.1**).

Cuadro 3.1. Genotipos generados en base a dosis de germoplasma partiendo de la F<sub>1</sub> directa (DxE = F) y reciproca (ExD = G).

Dosis	Nivel de combinación	Genotipos Derivados a partir de la cruza inicial		Total
		F	G	
100	Población	IMM-UAAAN-BAP (D)*	D	1
87.5	RC <sub>2</sub>	DFxD, DxDF, DxFD, FDxD	DGxD, DxDG, GDxD, DxGD	8
75	RC <sub>1</sub>	DxF, FxD	DxG, GXD	4
62.5	RC <sub>2</sub>	EFxD, DxEF, FExD, DxFE	EGxD, DxEG, GExD, DxGE	8
50	Filiales	F, FF, FFF	G, GG, GGG	6
37.5	RC <sub>2</sub>	DFxE, ExDF, FDxE, ExFD	DGxE, ExDG, GDxE, ExGD	8
25	RC <sub>1</sub>	ExF, FxE	ExG, GxE	4
12.5	RC <sub>2</sub>	EFxE, ExFE, FExE, ExEF	EGxE, ExEG, GExE, ExGE	8
0	Población	Tuxpeño-HOC-CIMMYT(E)*	E	1

Total= Dos Poblaciones\* paternas utilizadas en la cruza inicial mas 46 genotipos en siete dosis germoplásmicas.

Al diferenciar la dirección de cruza en cada uno de los casos, permitió la identificación de diferentes genotipos con la misma dosis de germoplasma (**Cuadro 3.1**). En el propósito de lograr la integración de las dosis requeridas, fue necesario realizar tres ciclos de polinizaciones (**Figura A 1**); esto incluyó al ciclo Tep. 2005/2006, UA-2006 y UA-2008. En cada ciclo, se reprodujeron las diferentes combinaciones germoplásmicas (dosis) que fueron alcanzadas; es en el último donde se generó el total

de combinaciones, por lo que los análisis de invernadero y laboratorio se practicaron en muestras aleatorias de esta fuente.

### **Trabajo en Campo**

Las polinizaciones fueron realizadas durante tres ciclos agrícolas, logrando en el primero el nivel de  $F_1$ ,  $F_2$  y  $RC_1$  en el segundo; y finalmente  $F_3$  y  $RC_2$ . En cada ciclo, a partir del segundo, se renovaron todos los genotipos para contar con semilla contemporánea de cada uno de ellos. Las polinizaciones fueron realizadas por medio de cruza mesofraternales con mezcla de polen. El ciclo 1 (2005/2006), se llevo a cabo en el Campo Experimental “Dr. Mario Castro Gil” en Tepalcingo, Morelos, de la UAAAN (18°26' Latitud N; 98°18' Longitud W; altitud 1100 msnm); ciclo 2 (2006) y 3 (2008), en el lote de polinizaciones del IMM-UAAAN, en Buenavista, Saltillo, Coahuila (25°21' Latitud N; 101° 02' Longitud W; altitud 1756 msnm).

### **Calificación en Invernadero**

La calificación a nivel de plántula a 14 días de edad, consistió en la siembra de 30 semillas por familia de medios hermanos por genotipo, sembradas en cajas germinadoras de 200 cavidades, en sustrato suelo de bosque: peat-moos (proporción 6:4); las variables evaluadas fueron:

- \* Porcentaje de germinación (GE).- Proporción de semillas germinadas.
  
- \* Porcentaje de poliembrionía (PE).- Presencia de plántulas múltiples (dos o más por semilla) en cada familia
  
- \* Porcentaje de Plantas anormales (ANR).- Presencia de plantas arropolladas, plantas cloróticas o subdesarrolladas, con respecto a la familia.

Esta evaluación fue realizada, bajo condiciones de invernadero en las instalaciones de la UAAAN en Saltillo, Coahuila.

### **Determinaciones químicas**

El estudio incluye análisis para grasa y proteína cruda (GC y PC) y contenido de lisina (Lis) en harina de granos enteros de maíz de todos los genotipos evaluados. Las muestras para los análisis anteriores se derivaron de compuestos balanceados de 300 semillas, obtenidas al azar de cada población, cruce, retrocruce o filial; de aquí se tomaron cantidades adecuadas para formar tres repeticiones, moler, obtener la harina y pesar la muestra específica, propia a cada procedimiento. La molienda de las semillas fue realizada en un molino Thomas –Willey, modelo 4 con malla de 2 mm; En la determinación de lisina fue utilizado un espectrofotómetro Biomate 3 de “Thermo Electron Corporation”. La determinación de GC fue realizada en el laboratorio de Fitoquímica; el de PC en el de Nutrición Animal, y la lisina en el de Producción y

Almacenamiento de Semillas, todos ellos en las instalaciones de la UAAAN, sede en Buenavista, Saltillo.

### **Procedimiento Experimental de Laboratorio**

Porciento de aceite. La metodología utilizada para GC fue el de percolación en el porta muestra del equipo Soxhlet: fueron pesados 3 g de harina de maíz y se colocaron en un dedal dentro de un sifón el cual fue conectado a un matraz de bola, previamente pesado; a éste, se le añadieron 250 ml de hexano. El matraz se calienta a una temperatura de 34° a 36° C. El proceso de extracción se efectúa durante 12 horas continuas a temperatura constante. Al cabo de este tiempo, se evapora el hexano contenido en el matraz, el cual se pesa y se calcula el por ciento de grasa cruda con la siguiente formula (Bernardini, 1981).

$$\text{Porciento de grasa cruda} = \frac{(\text{peso del matraz} + \text{muestra}) - (\text{peso del matraz solo})}{\text{g de muestra}} \times 100$$

La harina desgrasada del ciclo tres fue guardada para realizar con ella el análisis correspondiente a lisina.

Cuantificación de proteína cruda. La PC fue determinada mediante el método Kjeldhal, el cual consiste en colocar 1g de la muestra harina de maíz en un matraz

Kjeldhal; a éste se le adicionan 200 mg de mezcla selenica (catalizador), seis perlas de vidrio y 30 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se coloca el matraz en el digestor Kjeldhal en la parrilla hasta oxidación completa (color de café oscuro a verde claro); se deja enfriar el matraz y lentamente se le agregan 300 ml de agua destilada. En un matraz Erlemeyer con 50 ml de ácido bórico al 4%, se añaden de 5 a 6 gotas del indicador mixto y se coloca en destilador Kjeldhal con la manguera de recuperación de destilado dentro del matraz. Luego se le adiciona lentamente 110 ml de hidróxido de sodio al 45% y seis granallas de zinc; de aquí se lleva al aparato de destilación Kjeldhal y se agita una vez ensamblado en el equipo y se inicia la destilación; ésta termina cuando se reciben 300 ml en el matraz Erlemeyer; la titulación se realizó con ácido sulfúrico al 0.1N estandarizado hasta el viraje a color rosa pálido (AOAC, 1980).

Determinación de lisina. La cuantificación de este aminoácido, fue realizada a través del método de Tsai *et al.*, (1975) modificado por Villegas *et al.*, (1984) para muestras de maíz. El método requiere de papaína comercial con una concentración 4 mg por ml de solución reguladora de fosfato 0.03 M con pH 7.4, solución reguladora de carbonatos a 0.05 M con pH de 9.0, una solución reguladora de boratos a 0.05M con el mismo pH, una suspensión de fosfato de cobre (para la cual se disuelve 13.6 g de  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  en 100 ml de agua destilada (Reactivo A), se disuelve 13.6 g de  $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  en 200 ml de agua destilada (Reactivo B), mezclar los reactivos A y B; Centrifugar a 2000 rpm durante 5 minutos y descartar el sobrenadante. El precipitado se lava 3 veces con 15 ml de solución reguladora de borato y al final se re-suspende en 80 ml de solución reguladora, una solución de HCl a 1.2N, y una solución de 2-cloro-3,5 di-

nitro-piridina; también se preparó un curva estándar con una mezcla de aminoácidos a 3000, 1500, 750, 375, 187.5, 93.75, 46.875 y 0  $\mu\text{g/ml}$  y que se utilizó para el cálculo automático de lisina en  $\mu\text{g/ml}$ .

El procedimiento consistió en preparar un hidrolizado de 100 mg de harina de maíz, pasada en la malla de dos mm previamente desgrasada y pulverizada en 5 ml de solución de papaína a  $63 \pm 2$  °C durante 16 h, se dejó enfriar y se centrifugó a 2500 rpm por 5 min, se tomó 1 ml del sobrenadante y fue colocado en un tubo con 0.5 ml de solución reguladora de carbonatos y 0.5 ml de suspensión de fosfato de cobre, se agitó por 5 min y se centrifugó a 2000 rpm por otros 5 min. Se tomó 1 ml del sobrenadante y se mezcló con 0.1 ml de solución de 2 cloro-3,5 di-nitro-piridina, fue agitado vigorosamente, se dejó reposar por 2 h, agitando cada 30 min, se le agregaron 5ml de ácido clorhídrico y se agitó para homogenizar, se le agregó 5ml de solución extractora de acetato de etilo y se mezcló por inversión 10 veces, se extrajo la fase superior, repitiendo el procedimiento por tres veces, Se transfirió la fase acuosa a tubos de colorímetro calibrados y fue tomada la lectura en el fotocolorímetro a 390 nm utilizando como control un blanco. El contenido de lisina se calculó automáticamente con base a la curva estándar, obteniendo resultados en  $\mu\text{g/ml}$  los cuales se reportaron finalmente en g lisina /100 g de proteína

## Diseño y Análisis Estadístico

Los análisis de varianza, pruebas de medias y regresión lineal se realizaron mediante el paquete estadístico SAS [Versión 9.0, \(2002\)](#).

El establecimiento de los materiales en invernadero así como los análisis químicos fueron manejados en un diseño completamente al azar, con tres repeticiones, con excepción del caso de Lisina que se trabajó con dos repeticiones; los datos fueron analizados estadísticamente bajo el modelo siguiente de acuerdo con [Steel y Torrie \(1988\)](#).

Modelo estadístico:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$\mu$  = Efecto de la media general.

$\tau_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo tratamiento.

$\varepsilon_{ij}$  = Error experimental en la  $j$ -ésima repetición del  $i$ -ésimo tratamiento.

La prueba de medias de Tukey  $\alpha = 0.05$  fue aplicada en casos de diferencias estadísticas entre genotipos.

También fue aplicado un análisis de regresión lineal para determinar la dependencia de las variables GC y PE con las diferentes dosis de germoplasmas; utilizando el siguiente modelo. bn

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i$$

Donde:

$Y_i$  = Variable dependiente.

$X_i$  = Variable independiente.

$\beta_0$  = Intercepto.

$\beta_1$  = Coeficiente de regresión.

Para probar el mecanismo de herencia que controla la PE, fue aplicada una prueba de ji-cuadrada ( $X^2$ ) bajo la hipótesis de segregación 3:1 y 1:1,  $F_2$  o  $RC_1$ , de acuerdo con [Klung y Cummings. \(1999\)](#).

### **Análisis de Componentes Principales**

Para facilitar la interpretación de los resultados de los genotipos generados, fue realizado un análisis de componentes principales, con la ayuda del programa estadístico STATISTICA 6.1 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK), con el fin de establecer las relaciones entre variables y agrupar genotipos semejantes ([León \*et al.\*, 2008](#)). El programa trabaja

únicamente con medias, por lo que se utilizaron las medias calculadas en la prueba de medias de Tukey, en el paquete estadístico SAS [Versión 9.0, \(2002\)](#).

### **Análisis de Conglomerados**

Para agrupar los genotipos con los mejores atributos de calidad de grano y poliembrionía, se realizó un análisis de conglomerados, con la ayuda del programa estadístico STATISTICA 6.1 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK), en el que se agrupan aquellos genotipos con características similares permitiendo analizar las relaciones entre poliembrionía y calidad de grano ([Balzarini \*et al.\*, 2006](#)). El programa trabaja únicamente con medias, por lo que se utilizaron las medias calculadas en la prueba de medias de Tukey, en el paquete estadístico SAS [Versión 9.0, \(2002\)](#).

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza realizado para todos genotipos utilizados en el experimento, detectó diferencias ( $P \leq 0.01$ ) para todas las variables (**Cuadro 4.1**), el cual incluye 48 genotipos en nueve dosis de germoplasma PE:AA. En el citado Cuadro se puede resaltar que el promedio general para GE es superior en 17 % al requerimiento mínimo establecido en la producción de semilla certificada, y el promedio de GC es comparable con los valores reportados en el maíz de alto aceite (Feed & Grain, 1998; Thomison *et al.*, 2001).

Cuadro 4.1. Cuadrados medios y significancia para las variables de interés en las poblaciones base D y E, sus cruzas y retrocruzas.

F. de V.	g. l.	GE	PE	ANR	GC	PC	Lis
Gen	47	0.024 **	671.208 **	0.754 **	0.061 **	0.057 **	0.015 **
Error	96	0.009	7.637	0.250	0.004	0.004	0.005
C. V.		1.0	22.7	32.4	2.3	1.9	4.1
Media		97.4	9.8	2.3	7.0	10.5	2.7

GE, PE, ANR, GC y PC = Porcientos de germinación, poliembrionía, plantas anormales, grasa cruda y proteína cruda respectivamente; Lis = g de lisina/100 g de proteína.

Es de interés en la presente investigación ubicar la dosis óptima de germoplasma PE:AA que combinen PE con buen contenido de aceite y lisina; por lo que fue necesario trabajar con dosis de germoplasma y no con el total de genotipos que se generaron para

llegar a conformar dosis en estudio; para fines de respaldo experimental y pruebas posteriores al presente apartado, las medias de los 48 genotipos utilizados en el experimento y su significancia estadística se enlistan en el **Cuadro A 1**.

Al realizar el análisis de varianza para detectar diferencias entre las dosis PE:AA, la prueba detectó diferencias estadísticas ( $P \leq 0.01$ ) para las variables bajo estudio (**Cuadro 4.2**). La prueba incluye nueve dosis de germoplasma, las cuales se componen por siete dosis intermedias PE:AA y dos poblaciones básicas.

Cuadro 4.2. Cuadrados medios y significancia considerando las nueve dosis de germoplasma PE:AA.

F. de V.	g. l.	GE	PE	ANR	GC	PC	Lis <sup>+</sup>
Dosis	8	0.024 **	1117.985 **	0.781 **	0.075 **	0.040 **	0.040 **
Error	18	0.002	8.349	0.058	0.001	0.001	0.001
$\bar{X}$		0.5	19.3	14.0	1.2	0.7	3.9
C. V.		97.1	13.6	2.7	7.0	10.2	2.7

GE, PE, ANR, GC y PC = Porcientos de germinación, poliembrionía, plantas anormales, grasa cruda y proteína cruda respectivamente; Lis = g de lisina/100 g de proteína; <sup>+</sup>La experimentación con esta variable sólo incluye dos repeticiones, por lo que los grados de libertad para dosis son 8 y 9 para el error.

### Características de Invernadero

La prueba de medias (Tukey,  $\alpha = 0.05$ ) logró la separación de grupos estadísticos entre las diferentes dosis de germoplasma PE:AA, para cada una de las variables de invernadero (**Cuadro 4.3**). En relación a la variable GE, ésta fue mejorada de manera significativa en la entremezcla de las dos fuentes de germoplasma (PE:AA); los valores oscilaron entre 93 y 99 %; la dosis PE:AA 50:50 fue la que presentó el mejor comportamiento, mientras que la de menor porcentaje fue la dosis 100% (D); sin

embargo, todos los grupos presentaron una germinación al menos 13 % superior a la establecida en los estándares de germinación exigidos en semillas para siembra comerciales. De la misma manera la frecuencia de plantas anormales (ANR), fue reducida de manera significativa y la población poliembriónica D (Dosis 100 %) presentó los valores mas altos 7.3 %.

Cuadro 4.3. Comparación de medias por dosis de germoplasmas PE:AA, para las variables de invernadero.

Dosis †	GE	PE	ANR
0	98.0 ab	0.0 c	2.3 bc
12.5	97.5 ab	0.0 c	0.9 c
25	97.8 ab	0.0 c	1.4 c
37.5	97.9 ab	0.0 c	1.1 c
50	99.0 a	1.8 c	1.7 c
62.5	97.8 ab	7.9 c	2.8 bc
75	96.9 ab	12.0 c	2.4 b
87.5	95.9 b	35.2 b	4.5 b
100	93.0 c	65.5 a	7.3 a

† Con base en “D = 100 %, E = 0 %”; GE, PE, ANR = Porcientos de germinación, poliembriónía, plantas anormales; Tukey ( $\alpha = 0.05$ ), dosis con letras iguales son estadísticamente iguales.

La combinación de ciertas fuentes de germoplasma PE:AA presentaron un efecto de enmascaramiento en la expresión de la PE, la cual no se expresó en la F<sub>1</sub> (una de las versiones de la dosis 50 %), situación que se repite en dosis inferiores a 50 % (Cuadro 4.3); sin embargo, el carácter PE se manifestó en las filiales F<sub>2</sub> y F<sub>3</sub> y en dosis superiores; cabe aclarar que en los promedios generales de dosis para la proporción de 50 % existe un valor de poliembriónía ya que ésta incluye las filiales F<sub>2</sub> y F<sub>3</sub>, las cuales presentan casos de PE por efecto de segregación. En cuanto a la población D (proporción PE de 100 %), los valores de PE son consistentes con los reportados para esta población (Espinoza *et al.*, 1998; González *et al.*, 2006 y 2008). Es importante

resaltar que en dosis mayores de germoplasma D (62.5, 75, y 87.5 %) se observa la capacidad de transmitir el carácter en frecuencias crecientes.

El análisis de regresión lineal, que denota la relación entre la frecuencia de PE en función de proporción de germoplasma, fue significativo ( $P \leq 0.05$ ); la proporción de la varianza explicada por el modelo ( $R^2$ ) fue 87.2 %; esto apoya la interpretación de que existe una relación entre dosis y la expresión de PE (Figura 4.1).

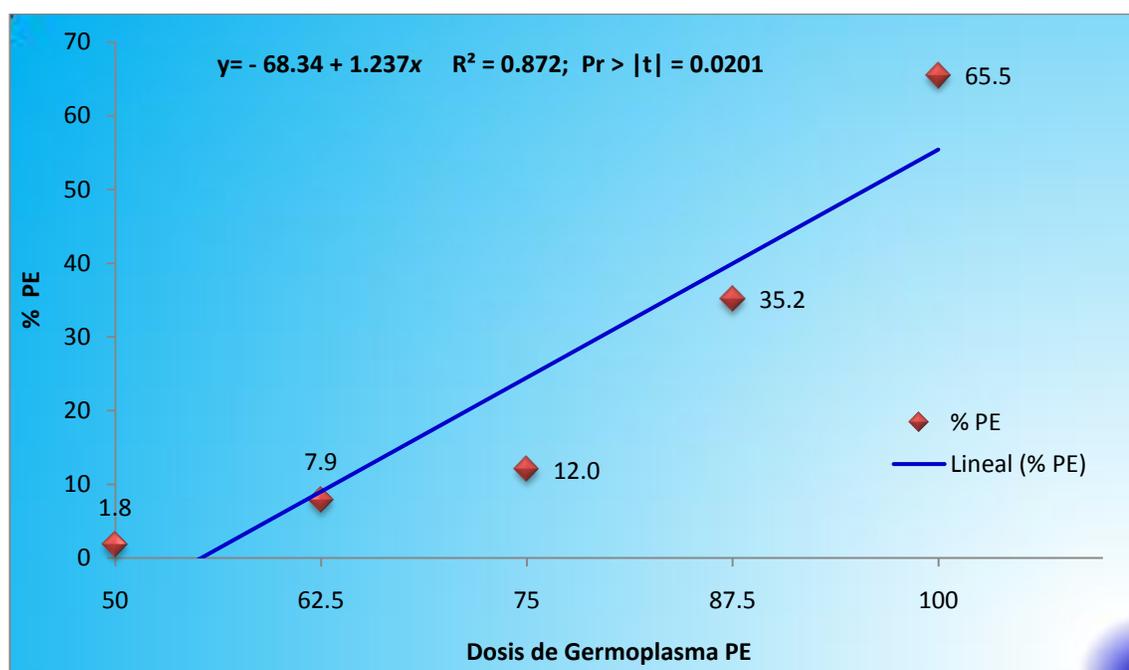


Figura 4.1. Valores observados y predichos por regresión lineal simple, para la expresión de la poliembriónía (PE) en relación al incremento de dosis de germoplasma poliembriónico (D) en la combinación PE:AA.

El análisis de regresión aportó evidencias de que la PE presente en D se relaciona con las dosis de germoplasma superiores a 50 % (Figura 4.1). El hecho del enmascaramiento de la PE en cruces con la fuente No-PE a nivel de  $F_1$  (Cuadro 4.3, Figura 4.1) y su recuperación en las siguientes filiales ( $F_2$  y  $F_3$ ) y en retrocruzas hacia D,

implica necesariamente establecer que la poliembriónía observada aquí es de carácter recesivo.

También, procede tratar de explicar los posibles mecanismos genéticos involucrados; por ahora, se pueden plantear la hipótesis de herencia monogénica, homocigótica recesiva.

Partiendo de lo anterior, el modelo más simple para explicar el mecanismo genético que gobierna la PE, sería un gen mayor, dos alelos, donde el dominante sería el tipo normal de maíz. En este caso la segregación esperada en la  $F_2$ , sería de 25 por ciento de plantas poliembriónicas contra 75 %, No-PE y la cruce de prueba generaría una proporción de 1:1 plantas Normales: plantas poliembriónicas. Para probar la hipótesis mencionada se utilizaron las frecuencias de PE observadas en  $F_2$  y  $RC_1$ , del ciclo 2 (UA-2006) aplicando una prueba de  $X^2$  de bondad de ajuste.

Los resultados de la  $X^2$  para frecuencias de PE mostró diferencias ( $P \leq 0.01$ ) en  $F_2$  y  $RC_1$  (Cuadros 4.4 y 4.5), respectivamente; por lo tanto, se rechaza la hipótesis de que la PE estuviera controlada por un gen, alelos homocigotos recesivos de esta hipótesis (3:1 en  $F_2$  y de 1:1 en  $RC_1$ ) ya que la frecuencia de PE en  $F_2$  fue de sólo 3.4 % y en  $RC_1$  de 25.1 %. Estos resultados requieren de plantear una hipótesis alterna, la cual pudiera ser un caso de interacción génica de dos loci, con epistasis doble dominante, de penetrancia incompleta, como lo propusieron Espinoza *et al.*, (2008).

El enmascaramiento de la poliembrionía en la F<sub>1</sub> del cruzamiento entre la población poliembriónica D y E (dosis de 100 y 0 % respectivamente), por un lado y la necesidad de contar con una dosis óptima de la fuente PE:AA por el otro, establece la necesidad de remontar la proporción 50:50 incrementando la dosis de germoplasma para recuperar genotipos que manifiesten la poliembrionía, o avanzar a la F<sub>1</sub> hacia filiales posteriores en un número grande de plantas segregantes, las cuales se espera que manifiesten la frecuencia de PE que se declaró en el párrafo anterior.

Cuadro 4.4. Prueba de  $X^2$  para la segregación de poliembrionía en la F<sub>2</sub> de la cruce entre D y E.

Clases	Proporción esperada %	Observado (o)	Esperado (e)	(o - e)	(o - e) <sup>2</sup>	(o - e) <sup>2</sup> /e
NoPE	75	4201	3261	940	883600	270.96
PE	25	147	1087	-940	883600	812.88

\*Datos del ciclo UA-2006;  $X^2_{tab., (0.01)} = 6.64$   $X^2 = 1083.84$   
 No PE = Plantas no poliembriónicas, PE = Plantas poliembriónicas.

Cuadro 4.5. Prueba de  $X^2$  para frecuencia de poliembrionía observadas en la cruce de prueba con el progenitor D.

Clases	Proporción esperada %	Observado (o)	Esperado (e)	(o - e)	(o - e) <sup>2</sup>	(o - e) <sup>2</sup> /e
NoPE	50	1383	923	460	211600	229.25
PE	50	463	923	-460	211600	229.25

\*Datos del ciclo UA-2006,  $X^2_{tab., (0.01)} = 6.64$   $X^2 = 458.50$   
 No PE = Plantas no poliembriónicas, PE = Plantas poliembriónicas.

### Calidad de Grano

El contenido de proteína cruda (PC) en las dosis de germoplasma se ubicó en un rango de 8.5 a 11 %, no se encontró ninguna relación de contenido de PC con las dosis

de germoplasma PE:AA (Cuadro 4.6); sin embargo, esto puede deberse a la naturaleza de la variable, la cual es afectada por el ambiente (Vázquez *et al.*, 2005). La prueba de medias clasificó estadísticamente superior las proporciones que comprenden las dosis 12.5, y 37.5 %.

Cuadro 4.6. Comparación de medias por dosis de germoplasmas PE:AA, para las variables GC, PC y Lis.

Dosis	GC	PC	Lis
0	8.3 a	10.3 bc	2.2 b
12.5	7.8 ab	11.0 a	2.5 b
25	7.6 bc	10.6 ab	2.5 b
37.5	7.4 bc	10.8 a	2.5 b
50	7.1 c	10.0 cd	2.8 b
62.5	6.5 d	10.3 bc	2.7 b
75	6.3 d	9.7 d	2.7 b
87.5	6.3 d	10.6 ab	2.8 b
100	5.6 e	8.5 e	4.0 a

GC y PC = Porcentos de grasa cruda y proteína cruda respectivamente; Lis = g de lisina/100 g de proteína. Tukey ( $\alpha = 0.05$ ); dosis con letras iguales son estadísticamente iguales.

Por otra parte, el contenido medio de lisina se ubicó de 2.2 a 4 g lisina/100 g de proteína; la prueba de medias logró separar los genotipos con respecto a esta variable, la cual no encontró diferencias estadísticas entre dosis intermedias (Tabla 4.6) y la media más alta corresponde al progenitor poliembriónico D con valores de 4 g lisina/100 g de proteína, valor comparable al maíz QPM (Vázquez, *et al.*, 2005; Mendoza-Elos *et al.*, 2006; Vidal *et al.*, 2008).

Los contenidos de GC (Cuadro 4.6) corroboran la superioridad de la población poliembriónica D (dosis 100 %) en relación a los híbridos actuales de maíz (Lambert 1994; Lambert *et al.*, 2004); también se observó que E (dosis 0) es 32.5 % superior al

maíz PE (D); y puede, en la entremezcla con D, generar dosis de germoplasma con valores de GC que superan al progenitor PE y se acercan a los valores promedio de maíces especializados de alto aceite (Thomison *et al.*, 2003).

Las diferencias significativas en el ANVA y la respuesta proporcional de contenido de aceite con respecto a la dosis de germoplasma en la prueba de medias, respalda la hipótesis de partida de esta investigación de relación dosis de germoplasma con contenido de aceite en el grano, y justifica la realización de un análisis de regresión lineal para esta variable.

El análisis de regresión para GC con respecto a dosis fue significativo ( $P < 0.01$ ),  $R^2$  de 97 % (Figura 4.2). La prueba mostró una relación lineal negativa. Esto se explica dado que la presentación de los resultados tiene al germoplasma E (alto aceite) como el punto de partida (0 % de D); a medida que se va sustituyendo con germoplasma D (poliembriónico, alta Lis pero moderado contenido de aceite) los valores de grasa cruda se van reduciendo. Esta relación brinda la posibilidad de diseñar nuevos trabajos de investigación dirigidos a producir maíces de alto aceite. De acuerdo a estos resultados, las dosis de germoplasma PE:AA 37.5 y 50 % parecen ser los óptimos a utilizarse para conformar la base genética con la posibilidad de una rápida recuperación de la PE, que significan un nivel deseable de lisina; recombinar materiales de estas categorías pudieran redituarse en variedades de alto aceite, superiores a los maíces e híbridos modernos (Lambert, 1994; Lambert *et al.*, 2004).

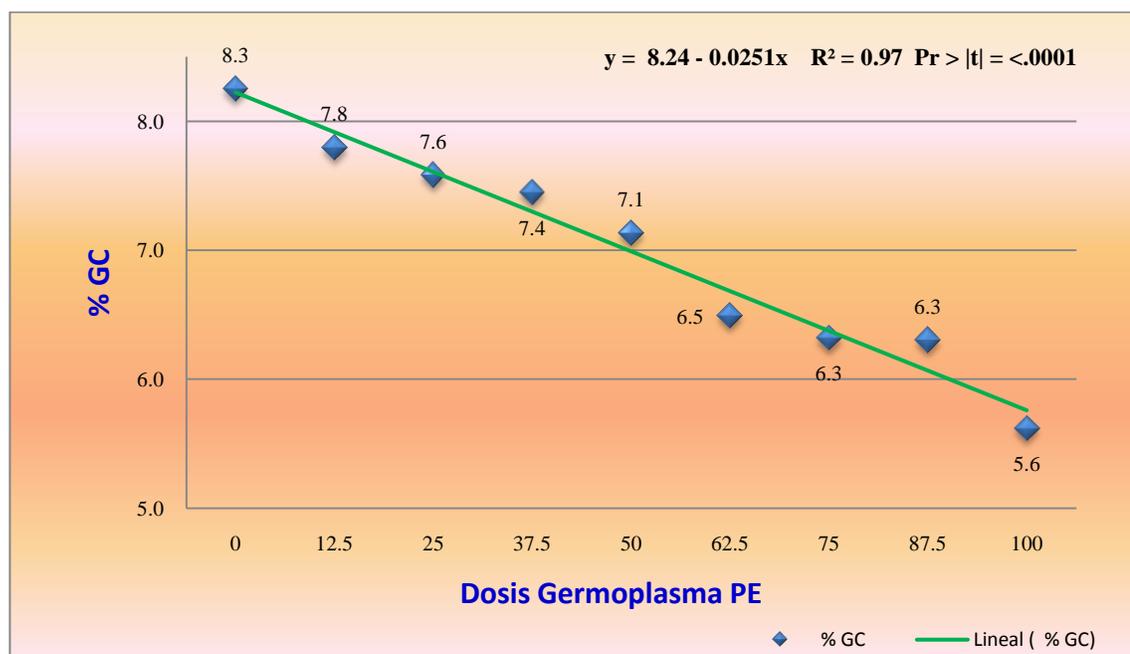


Figura 4.2. Valores observados y predichos por regresión lineal simple, para la relación de contenido de grasa cruda (GC) con el incremento de dosis de germoplasma PE.

En la prueba de medias para contenido de grasa cruda de las filiales y sus progenitores resultaron significativas (Figura 4.3); esto pudiera indicar efectos recíprocos dada la dirección de cruce; la cruce recíproca (G) fue 18 % superior en GC a la cruce directa (F). Al comparar las filiales  $F_2$  (FF y GG) y  $F_3$  (promedio de FFF y GGG), se observó que el promedio en GC de la  $F_3$  es muy cercano al promedio de las poblaciones y filiales, la  $F_2$  tiende a estabilizarse hacia un valor intermedio entre los progenitores.

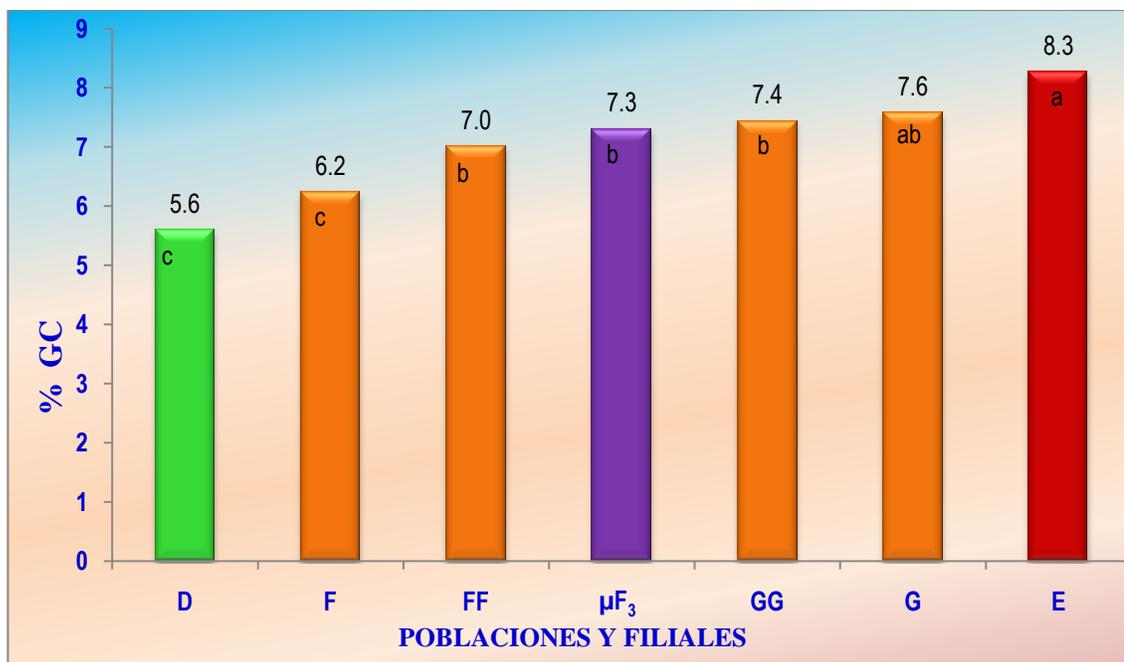


Figura 4.3. Respuesta del contenido de grasa cruda (GC) en filiales, comparadas con las poblaciones paternas (D, E) en grano completo de maíz. (D = Población Braquítica de Alta Poliembriónía, E = Población Tuxpeño de Alto Aceite, F = Dx E, G = Ex D, FF y GG = F<sub>2</sub> de F y G respectivamente,  $\mu F_3$  = promedio de F<sub>3</sub> de F y G. Tukey ( $\alpha = 0.05$ ); barras con letras iguales no son estadísticamente diferentes.

Además, el contenido de GC en la RC<sub>1</sub>, hacia ambos progenitores, mostró un efecto de dirección de cruce; donde las RC<sub>1</sub> hacia el progenitor E, son estadísticamente superiores (Figura 4.4); así mismo, en las Figuras 4.3 y 4.4, se observa el comportamiento clásico de caracteres métricos, que tienen un comportamiento gradual y acumulativo. Esta tendencia también se puede apreciar en las dosis de germoplasma PE:AA (Figura 4.5), donde el contenido de aceite en el grano se incrementa en función del incremento del germoplasma de alto aceite.

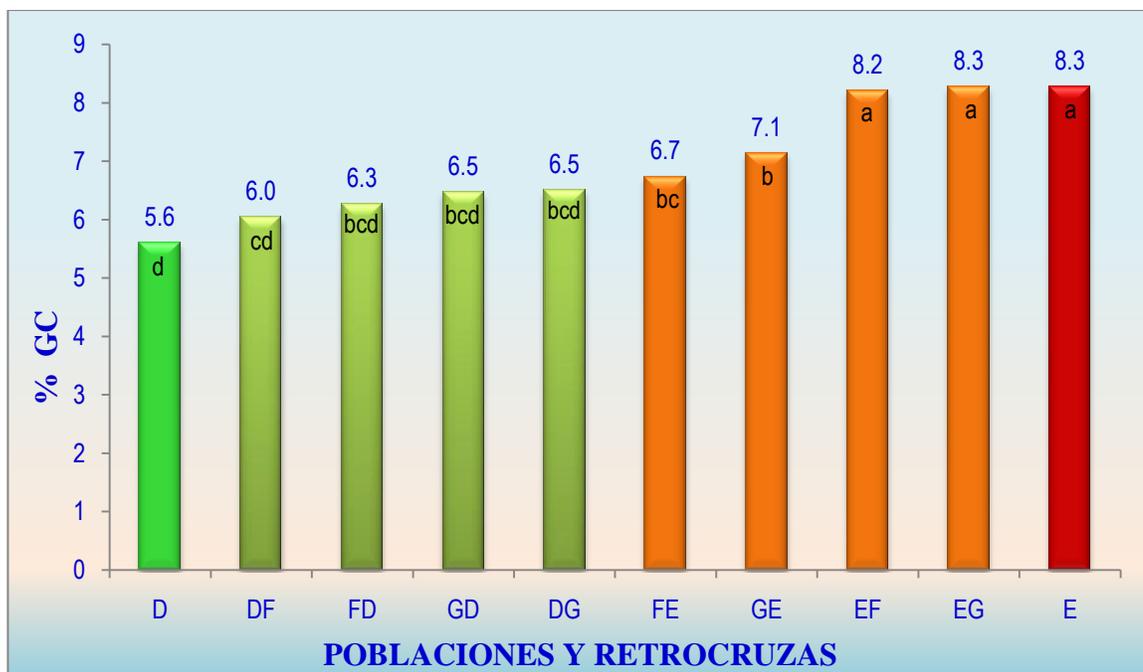


Figura 4.4. Valores medios para contenido de grasa cruda (GC) en retrocruzas directas y recíprocas en comparación con las poblaciones paternas (D, E) en grano entero de maíz. (D = Población Braquítica de Alta Poliembriónía, E = Población Tuxpeño de Alto Aceite, F = DxE, G = ExD, FF y GG = F2 de F y G respectivamente,  $\mu F_3$  = promedio de F<sub>3</sub> de F y G). Tukey ( $\alpha = 0.05$ ); barras con letras iguales no son estadísticamente diferentes.

El contenido de aceite observado en los genotipos indican un efecto de dirección de cruce, al menos a nivel de F<sub>1</sub> y RC<sub>1</sub> (Figura 4.3 y 4.4); así mismo, se observa una respuesta gradual relacionada a dosis de germoplasmas PE:AA (Cuadro 4.6, Figura 4.5); dicho comportamiento es comparable a los casos históricos de herencia poligénica descrita por East (1936). En este contexto, es probable que la genética que gobierna la concentración de aceite en el grano de estas poblaciones y genotipos agrupados en las dosis utilizadas, sea de herencia poligénica, situación que coincide con el reporte de Clark *et al.*, (2006).

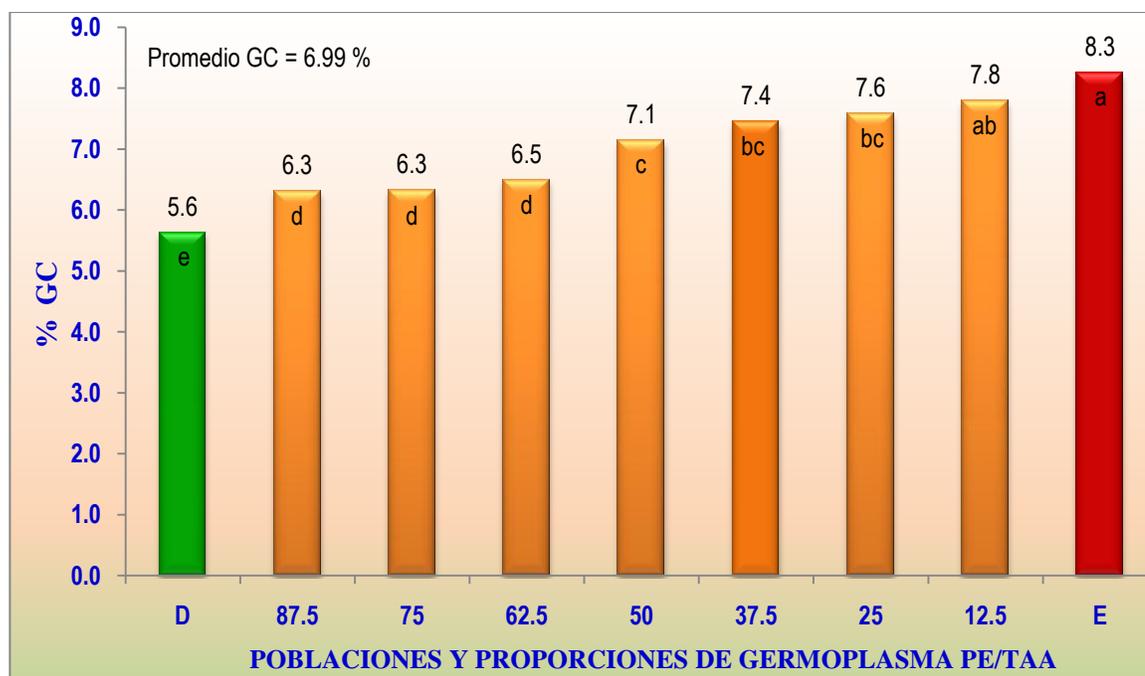


Figura 4.5. Valores medios para contenido de grasa cruda (GC) en poblaciones paternas (D, E) y diferentes dosis de germoplasma, en grano entero de maíz. (D = Población Braquítica de Alta Poliembriónía, E = Población Tuxpeño de Alto Aceite; las dosis indican el contenido de germoplasma de D). Tukey ( $\alpha = 0.05$ ); barras con letras iguales no son estadísticamente diferentes.

### Análisis de Componentes Principales

Por otro lado al realizar el análisis de relación entre variables por medio del análisis de componentes principales (ACP), utilizando los promedios de las seis variables calificadas en el presente estudio, se encontró que los dos primeros componentes principales (CP) explicaron el 73.5 % de la varianza total (Cuadro 4.7), donde el primer componente principal contuvo 55.5 % de dicha varianza y se puede definir como un componente de relación con germoplasma poliembriónico ya que las variables de alta relación con el componente fueron: poliembriónía (PE), plantas anormales (ANR) y lisina (Lis), que registraron una relación positiva entre si y con el componente, pero negativa con germinación (GE) y con grasa cruda.

Por su parte el segundo componente explicó un 18 % de la varianza total y se relacionó de manera positiva con el contenido de proteína cruda (PC).

Cuadro 4.7. Coeficientes de correlación de cada variable con los dos componentes principales

Variables %	Componentes principales	
	CP 1	CP 2
Germinación	-0.621	-0.498
Poliembrionía	0.928	0.174
Plantas anormales	0.863	0.139
Grasa cruda	-0.804	-0.007
Proteína cruda	-0.389	0.797
Lisina	0.733	-0.391
Eigenvalor	3.328	1.086
% varianza total	55.470	18.095
% varianza acumulada	55.470	73.565

En la [Figura 4.6](#) se presenta la distribución de las variables en los dos componentes principales, donde, la variables poliembrionía (PE) tuvo una relación positiva con plantas anormales (ANR) y ambas se relacionaron con contenido de lisina (Lis); además, estas variables en conjunto se relacionaron de manera negativa con la variables germinación (GE) y grasa cruda (GC) datos que corroboran los reportes sobre bajos porcentajes de germinación y alto contenido de lisina en las poblaciones poliembriónicas del IMM-UAAAN ([Espinoza et al., 1998](#); [Valdez, 2005](#); y [Musito et al., 2008](#)), por otro lado la relación negativa con grasa cruda se explica por el echo de que la fuente de alto aceite (Tuxpeño de alto aceite,) y las dosis que presentaron los valores mas altos en contenido de GC, no presentaron poliembrionía.

El CP2 solo capturó la varianza debida a la variable proteína cruda (PC) no presentó ninguna asociación con las variables relacionadas a poliembrionía ni con contenido de grasa cruda.

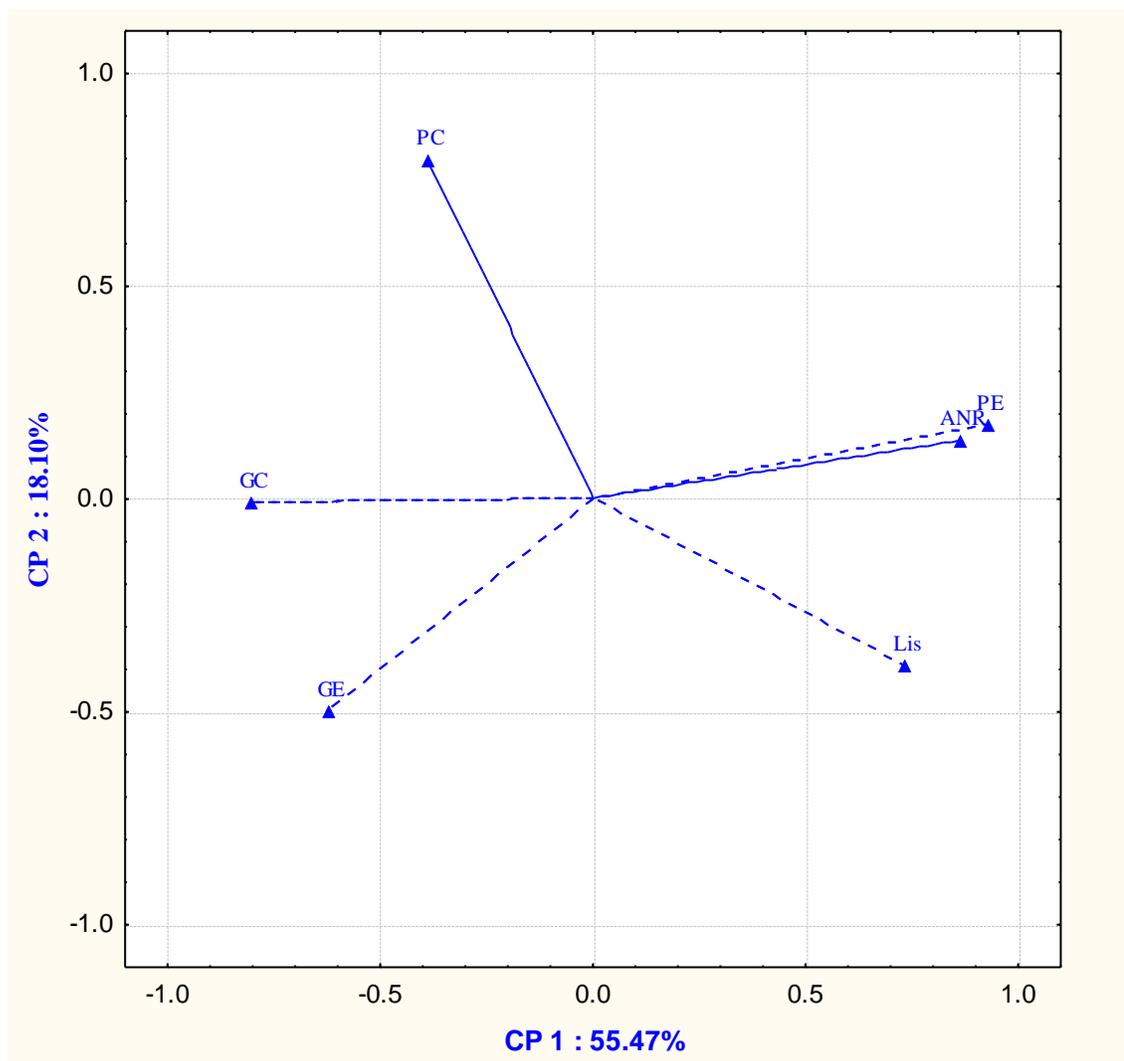


Figura 4.6. Distribución de las variables en los dos primeros componentes principales (CP).

Al graficar los 48 genotipos con base en los dos primeros componentes principales (CP), se encontraron agrupados en el cuadrante superior a los genotipos con dosis de 87.5 % (Figura 4.7), mientras que la población de alta poliembrionía “D”, dosis de 100%

se ubica en el cuadrante inferior derecho. Sin embargo el resto de las dosis PE:AA se agrupan en su mayoría en centro cubriendo los cuatro cuadrantes pero sin una separación efectiva entre dosis de germoplasma que se puede relacionar con características de invernadero y calidad de grano.

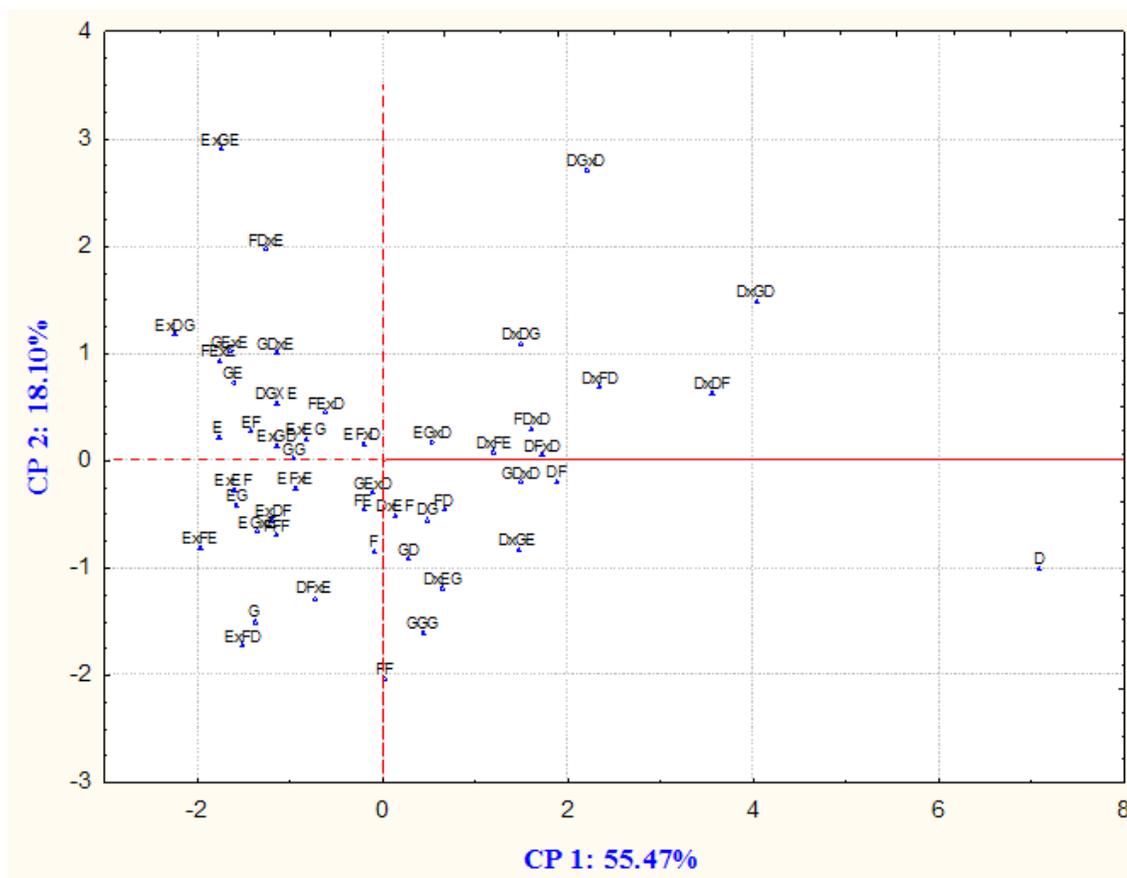


Figura 4.7. Distribución de los genotipos en los dos primeros componentes principales (CP).

### Análisis de Conglomerados

Para tener una mejor clasificación de los diferentes genotipos, fue realizado un análisis de conglomerados (AC); el cual formó tres grupos de interés; en el primero se encuentra a la población de alta poliembriónía (D), la cual se caracteriza por tener el más

alto porcentaje de poliembrionía, plantas anormales y proteína de mejor calidad con el valor mas alto de lisina (Figura 4.8 y Cuadro 4.8).

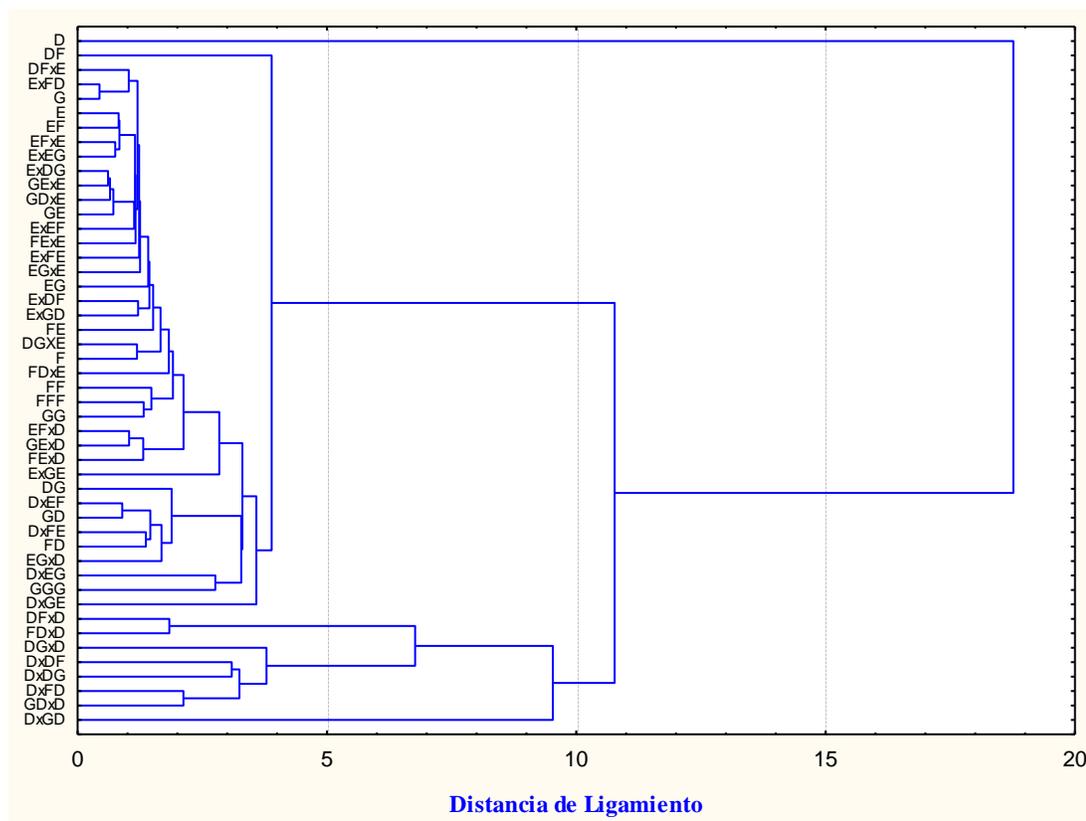


Figura 4.8. Dendrograma de agrupamiento de genotipos con base a características de invernadero y calidad de grano.

El segundo grupo lo constituyen genotipos que se ubican en las dosis de germoplasma PE:AA: 0 (Población Tuxpeño de Alto Aceite “E”), 12.5, 25, 37.5, 50, 62.5 y 75 %), que se caracterizan por tener el menor porcentaje de poliembrionía y plantas anormales; el mejor porcentaje de germinación y contenido de aceite superior a los otros dos grupos. Dosis o genotipos de este grupo podrían ser las adecuadas para establecer un programa de mejoramiento dirigido a producir genotipos con alta contenido de aceite en el grano (Figura 4.8 y Cuadro 4.8).

Cuadro 4.8. Características de invernadero y calidad de grano de grupos formados mediante el análisis de conglomerados.

Características	Grupos		
	I	II	III
Germinación	93.0	97.8	95.9
Poliembrionía	65.5	3.1	35.2
Plantas anormales	7.3	1.7	4.5
Grasa cruda	5.6	7.2	6.3
Proteína cruda	8.5	10.5	10.6
Lisina	4.0	2.6	2.8

El tercer grupo esta constituido por todos los genotipos que integran la dosis de germoplasma PE:AA de 87.5 % (Figura 4.6), la principal característica del grupo es un alto nivel de poliembrionía, que representa el 53.74 del promedio de la fuente de alta poliembrionía (PE); este grupo también combina valores intermedios entre las fuentes de alta poliembrionía (dosis 100 %, “D”) y alto aceite (dosis 0 %, “E”) para lisina y grasa cruda respectivamente (Cuadro 4.8), lo que los ubica como una alternativa para ser utilizados en un programa de mejoramiento orientado a una recuperación rápida de la PE con mayor contenido de grasa cruda que la población poliembriónica original.

Una vez presentadas las variables analizadas en el presente experimento, es necesario decidir cuál es la dosis de germoplasma óptima en la serie aquí generada para conformar una población poliembriónica con buena calidad proteica y alto contenido de aceite. Como las diferentes dosis mostraron un comportamiento estadísticamente similar en cuanto al contenido de lisina, queda sólo por disertar sobre dos variables de mayor interés; el contenido de aceite, por ser la característica a mejorar, y la poliembrionía, por ser la fuente de calidad proteica y moderado contenido de aceite. Conviene reiterar que

el objetivo es conformar una población poliembriónica de alto aceite y mantener la calidad proteica, a partir de la entremezcla de germoplasmas PE:AA.

El aceite se ve reducido conforme se incrementa el genoma de la población D, que favorece la aparición de casos de plantas poliembriónicas (Dosis de 62.5, 75 y 87.5 % de germoplasma PE); por otro lado, al reducir el germoplasma PE a niveles inferiores a 50 %, se mejora considerablemente el contenido de aceite en el grano, llegando a niveles comparables a E (dosis 12.5, 25 y 37.5), pero desapareciendo los casos de plantas múltiples (PE). Lo que plantea la pregunta sobre la dosis óptima que combine a ambos fenómenos.

Por lo tanto, la dosis óptima se puede establecer de acuerdo a los objetivos del programa de mejoramiento; si se quiere conformar una población con alto nivel de aceite, la dosis de 37.5 % permitiría generar grupos con contenidos de aceite 25 % superiores al maíz poliembriónico y 35 % superiores al maíz común; bajo el concepto de que la poliembriónía se ve enmascarada al combinar las poblaciones PE con fuentes No-PE, sería necesario llevar a los genotipos que conforman esta dosis a  $F_2$  y realizar un establecimiento amplio en  $F_3$ , (más de 10,000 plantas) para recuperar especímenes poliembriónicos en una frecuencia del 1.17 %; esto, considerando que los mecanismos genéticos involucrados en el control de la PE fuera como lo planteado en el presente documento.

Si se busca una recuperación mas rápida de la PE, se puede trabajar con la dosis de 87.5 ya que es estadísticamente igual en contenido de aceite a las dosis 62.5 y 75 % de germoplasma PE:AA; esta dosis permitiría una ganancia de aceite en el grano 10 % superior al progenitor poliembriónico y una rápida recuperación de la poliembriónía ya que la dosis 87.5 ( $RC_2 F_1$ ), presenta frecuencias de 35% en PE, por lo que se esperaría una mayor expresión del carácter en filiales subsecuentes.

## V. CONCLUSIONES

En los términos y condiciones experimentales de este trabajo, los resultados sugieren que trabajar con dosis de germoplasma, a través de filiales y retrocruzas, es una alternativa para incorporar características deseables a las poblaciones PE, recuperar esta condición en nuevos grupos genotípicos, con probabilidades de éxito; independientemente del tipo de herencia que gobierne al carácter PE.

La dosis óptimas para derivar germoplasma de alta calidad son 37.5 % germoplasma PE:AA, que significa una mejora en aceite y puede mantener la calidad proteica al recuperar PE en filiales subsecuentes.

Las características de las diferentes dosis proveen germoplasma que puede ser utilizado en la constitución de una base genética para la derivación de variedades de alta calidad nutricional del grano, ya sean PE o No-PE.

## VI. RESUMEN

El maíz (*Zea mays* L.) de uso especializado incluye la versión de alto aceite, los cuales representan una alternativa para generar variedades de calidad nutricional de grano; éstas pueden ser mejoradas incrementando contenido de aceite y calidad proteica. Por otra parte, la poliembrionía (PE) es otro fenómeno de interés en maíz por su cualidad de producir dos o más plantas productivas por semilla, y que se relaciona con proteínas de calidad y un ligero aumento en contenido de aceite en el grano, comparándolo con el maíz común.

En este trabajo fueron combinadas las poblaciones D (braquítica de alta poliembrionía, IMM-UAAAN-BAP), y E (Tuxpeño de alto aceite de CIMMYT = AA); a partir de las cuales se derivaron nueve dosis de germoplasma Poliembrionico:Alto aceite "PE:AA" (0, 12.5, 25, 37.5, 50, 62.5, 75, 87.5 y 100 %) por la vía de filiales y retrocruzas. Los objetivos planteados fueron: constituir el germoplasma base para la derivación de variedades de alta calidad nutricional del grano a mas de otras cualidades de importancia agronómica-económica; identificar las dosis de germoplasma PE:AA que confieran la mayor calidad nutricional de grano, *i. e.* mayor concentración de grasa cruda, proteína cruda, y lisina; y ubicar las dosis de germoplasma PE:AA que presenten la posibilidad de una rápida recuperación de la poliembrionía. Las variables de respuesta fueron: germinación (GE), frecuencia de poliembrionía (PE), en invernadero; contenidos

de grasa y proteína cruda (GC, PC) y lisina (Lis), en laboratorio. Los tratamientos (dosis) para las variables de invernadero así como los de análisis químicos fueron manejados en un diseño completamente al azar con tres repeticiones, con excepción de lisina, que se trabajó con dos repeticiones. Los datos fueron sometidos al ANVA correspondiente; la prueba de medias, cuando procedió, fue vía Tukey,  $\alpha = 0.05$ . También, fue aplicado un análisis de regresión lineal para determinar la dependencia de las variables GC y PE con las diferentes dosis de germoplasmas. Para probar el mecanismo de herencia que controla la PE, fue aplicada una ji-cuadrada ( $X^2$ ) de bondad de ajuste. Las medias de las variables de invernadero se unieron a las medias de las variables de calidad de grano y fueron analizadas mediante análisis de componentes principales (CP) y análisis de conglomerados (AC), con el fin de establecer relaciones entre variables y agrupar genotipos semejantes.

Las dosis intermedias (combinan PE:AA) alcanzaron valores de Lis y GC, superiores al de maíz común (2.7 % y 6.9 %). La PE confiere a la población portadora el valor más alto para Lis (4 %), mientras que AA presentó el más alto en aceite (8.3 %). La proporción óptima para formar una base genética de alta calidad es 37.5 % PE:AA; y para PE es la dosis 87.5, con contenidos de lisina de 2.8 g lisina/100 g de proteína y contenidos de GC 10 % superior al progenitor poliembriónico D.

Los resultados de la  $X^2$  para probar la hipótesis de herencia monogénica, homocigótica recesiva en frecuencias de PE mostró diferencias ( $P \leq 0.01$ ) en  $F_2$  y  $RC_1$ ; por lo tanto, se rechaza la hipótesis de que la PE estuviera controlada por un gen, dos alelos homocigotos recesivos (3:1 en  $F_2$  y de 1:1 en  $RC_1$ ); esto, por que la frecuencia de PE en  $F_2$  fue de sólo 3.4 % y en  $RC_1$  de 25.1 %. Estos resultados requieren de plantear

una hipótesis alterna, la cual pudiera ser un caso de interacción génica de dos loci, con epistasis doble dominante, de penetrancia incompleta.

Las dosis de germoplasmas probadas aquí son de valor genético, con potencial para generar variedades de maíz con calidad nutrimental Lis-AA.

## VII. LITERATURA CITADA

- AOAC, 1980. Métodos oficiales de análisis. Association of Official Agricultural Chemists. 15<sup>th</sup> e. Washington D. C., USA.
- Azevedo, R.A., Lancien M., Lea P.J. 2006. The aspartic acid metabolic pathway, an exciting and essential pathway in plants. *Amino Acids* 30: 143-162.
- Balzarini, M. A. A., Bruno, C., Di Rienzo, J. 2006. Análisis de datos de marcadores con *Info-Gen*. XXXV Congreso Argentino de Genética, San Luis. Argentina.
- Bernardini, E. 1981. Tecnología de aceites y grasas. 1<sup>ra</sup>. Ed. alhambra. España 72-94.
- Bjarnason, M. and Vasal, S.K. 1992. Breeding of quality protein maize. *Plant Breed. Rev.* 9: 181-216.
- Castro, G.M. 1973. Super dwarf corn for high productivity. Bulletin, Special edition. Escuela Superior de Agricultura Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, Mexico. 28 pp.
- Castro, G.M. 1978. Informe de Avances de Investigación en el mejoramiento Genético de Maíz. Boletín Técnico No. 1 Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista. Saltillo Coahuila, México, p 47.
- Castro, G., M. 1979. Estudio sobre herencias y valores nutritivos de semillas con doble embrión, Avances de investigación en maíz. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista. Coahuila, México. pp. 24-25.
- Centro de Estudios de las Finanzas Públicas “CEFP”, 2004. Impacto de las importaciones de maíz blanco y de frijol originarias de EUA, en el mercado interno de México. Cámara de diputados. H. Congreso de la unión. CEFP/054/2004. Palacio legislativo de San Lázaro.
- Clark, D., J.W. Dudley, T.R. Rocheford., and J.R. LeDeaux. 2006. Genetic analysis of corn kernel chemical composition in the random mated 10 generation of the cross generations 70 of IHO x ILO. *Crop Sci.* 46: 807 – 819.

- Coutiño, E.B., A. Ortega C., V.A. Vidal M., G. Sánchez g., S.I. García A. 2008. Selección recurrente para incrementar el contenido de aceite en maíz comiteco. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 31 (3): 5 - 8.
- Dale, N. 1997. Ingredient Análisis table. Feedstuffs-Reference Issue. Vol. 69 Num. 30: 24-31.
- Dudley, J.W. 2007. From means to QTL: The Illinois long-term selection experiment as a case study in quantitative genetics. Crop Sci. 47(S3) S20–S31.
- Dudley, J.W., and R.J. Lambert. 1992. Ninety generations of selection for oil and protein in maize. Maydica 37:1-7.
- East, E. M. 1936. Heterosis. Genetics 21: 375-397.
- Erdelska, O., 1996. Cleavage polyembryony *in vivo* and *in vitro*. Acta Botanicorum Poloniae TOM 65 (1-2) CTOP. 001123-00125.
- Espinoza, V., J., M. C. Vega S. 2000. Maíces de alta frecuencia poliembriónica. En: Zavala g., F., R. Ortega P., J. A. Mejía C., I. Benítez R. Y H. Guillén A. (eds.). 2000. Memorias del XVIII Congreso Nacional de Fitogenética: Notas Científicas. SOMEFI. Chapingo, México.
- Espinoza, V.J., Ma. C. Vega S., D. Jasso C. 1999. Contenidos de grasa y proteína cruda en semillas de maíces poliembriónicos. En: Espinoza V., J y J. del Bosque Celestino (eds). 1999. “Memoria del 2do. Taller Nacional de Especialidades de Maíz. p. 159-165. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Espinoza, J., M.C. Vega, E. Navarro, G.A. Burciaga. 1998. Poliembriónía en maíces de porte normal y enano. Agronomía Mesoamericana. 9(2):83-88.
- Espinoza, V.J., Valdez L.L., González V.V.M., Musito R.N., Gallegos S.J.E., Sánchez L.J., Villarreal C.A.G., Alcalá R.J.M. 2008. Estudios Genéticos Sobre la Poliembriónía en Maíz. Análisis Retrospectivo. In: Libro Científico Anual Agricultura, Ganadería y Ciencia Forestal UAAAN-2006. ISBN-978-968-844-059-9. Pp2-8. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Coahuila, México.
- Food and Agriculture Organization. 1993. Maize in human nutrition. <http://www.fao.org>.
- FAO. 2004. Producción de alimentos y productos básicos agrícolas por país. Departamento económico y social. Dirección de estadísticas. <http://www.fao.org/es/ess/top/commodity.html?lang=es>.
- Feed & Grain. 1998. La influencia del maíz alto en aceite en los alimentos para aves. Revista para fabricantes de alimentos balanceados, operaciones integradas y

- procesadores de grano. ISSN1085-0503. Johnson Hill Press. Cygnus Publishing, Inc. Fort Atkinson, WI. USA. pp. 4-7.
- Gómez, J.R. 1983. Estudio sobre herencia y valor nutritivo de semilla de maíz con doble embrión. Avances de investigación en maíz. Instituto Mexicano del Maíz Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo Coahuila, México.
- González, V.V.M, Espinoza V. J., Mendoza V.R., Alcalá R.J.M. 2008. Hibridación entre poblaciones de maíces poliembriónicos y de alto aceite: II. Calidad nutrimental de grano. Memoria del XXII Congreso Nacional y II Internacional de Fitogenética, SOMEFI. Chapingo, México, México. pp. 359.
- González, V.V.M., J. Espinoza V., N. Musito R., y J.E. Gallegos S. 2006. Hibridación varietal entre maíces poliembriónicos y de alto aceite. I. Comportamiento en plántula. Memoria XXI Congreso Nacional I Internacional de Fitogenética de SOMEFI, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. p: 158.
- Gutiérrez, R.A., M.S. Paul, R.L. Otto., M. Menz., and J. Betrán. 2008. Phenotypic characterization of quality protein maize endosperm modification and amino acid contents in a segregating recombinant inbred population. *Crop Sci.* 48:1714–1722.
- Hallauer, A.R., and J.B. Miranda. 1981. *Quantitative Genetics in maize Breeding*. Ed. Ames, Iowa, U.S.A. The Iowa States University Press. pp.14.
- Huang, S., Whitney R.A., Zhou Q., Kathleen P.M., Dale A.V., Jan A., Alan L.K., Luethy M.H. 2004. Improving nutritional quality of maize proteins by expressing sense and antisense zein genes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 52(7): 1958-1964.
- Klung, S.W. y M.R. Cummings. 1999. *Conceptos de genética*. 5ª Edición. Ed. Pearson Educación. España. pp. 68-71
- Lambert, R.J. 2001. High-oil hybrids. *In* A.R. Hallauer (ed.) *Specialty corns*. CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 131–154
- Lambert, R. J., 1994 High-oil corn hybrids, pp. 123–145 in *Specialty Corns*, edited by A. R. Hallauer. CRC Press, London.
- Lambert, R.J., D.E. Alexander and I.J. Mejaya, 2004. Single kernel selection for increased grain oil in maize synthetics and high-oil hybrid development. *Plant Breed. Rev.* 24 (Pt. 1): 153–175.
- Lamkey, K.R., and Lee M. 2006. *Plant breeding: in: The arnel R. Hallaauer International symposium*. 1ra ed. Ed. Blackwell Publishing. Australia. pp. 18, 19, 335-337.

- Lehninger, L.A. 1981. Bioquímica de las bases moleculares de la estructura y función celular. Ed. Omega. pp. 285-292.
- León, G. A., Llinas, S. H., Tilano, J. 2008. Análisis multivariado aplicando componentes principales al caso de los desplazados. Ingeniería & Desarrollo. Número 23: 119-142.
- Magnavaca, R., Oliveira, A.C., Morais, A.R., Gama, E.E. and Santos, M.D. 1989. Family hybrid selection of quality protein maize. Maydica, 34: 63-71.
- Márquez, S.F. 1988. Genotecnia Vegetal tomo II, AGT editor, S. A. pp. 271.
- Martínez, G.P. and T.M. Gradziel. 2003. Sexual polyembryony in almond. Sex Plant Reprod 16: 135 – 139.
- Mendoza, E.M., E. Andrio E., J.M. Juárez G., C. Mosqueda V., L. Latounerie M., G. Castañón N., A. López B., E. Moreno M. 2006. Contenido de lisina y triptófano en genotipos de maíz de alta calidad proteica y normal. Universidad y ciencia: trópico Húmedo. Vol. 22 (2): 153 - 161.
- Mertz, E.T., Bates, L.S. and Nelson, O.E. 1964. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. Science, 145: 279-280.
- Morgan, D.T.; Repley, R.D. 1951. Polyembryony in maize and lily, following x-irradiation of the pollen. Jour. Hered. 41:90-93.
- Musito, R.N., J. Espinoza V., V.M. González V., J.E. Gallegos S., H. De León C. 2008. Características de plántulas en familias derivadas de una población de maíz poliembriónico. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 31 (4): 399 – 402.
- Pesev, N.R and Petrovic, L. 1976. Study of possibility in raising maize inbred lines with two embryos. Theoretical and Applied Genetics 47: 197-201.
- Pixley, K.V. and Bjarnason, M. 1993. Combining ability for yield and protein quality among modified endosperm opaque-2 tropical maize inbreds. Crop Sci., 33: 1229-1234.
- Rodríguez, H.S y Castro, G.M.E. 1978. Estudio sobre herencia de semilla con dos embriones. Avances de investigación en maíz. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo Coahuila, México. pp. 19.
- Rodríguez, H.S. 1981. Determinación de la heredabilidad y efectos de la selección para el carácter doble embrión en maíz (*Zea mays* L.) Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. pp.48.
- Routh, J.I. 1985. Química orgánica y bioquímica. Ed. Interamericana. pp. 231-234.

- Sánchez, R., G., F.A. Martínez M., L.A. López I. 1998. Oportunidades de Desarrollo del Maíz Mexicano. FIRA. Boletín Informativo. Núm. 309, vol. XXX. Octubre, 1998. Morelia, Michoacan, México. 88p.
- SAS Version 9.0. 2002. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Sharman, B.C. 1942. A twin seedling in *Zea Mays* L. twinning in the gramineae. The New Phytologist. 41, 2:125-129.
- Thomison P.R., A.B. Geyer, L.D. Lotz, H.J. Siegrist, and T.L. Dobbels. 2003. TopCross high oil corn production: Select grain quality attributes. Agron. J. 95:147–154.
- Valdez, L.E.L., J Espinoza V., A.F. Aguilera C., M.L. Reyes V. 2004. Fatty acids in polyembryonic maize. Book of Abstract. Institute of Food Technologist 2004 Annual Meeting. Las Vegas, Nevada. July 12 – 16, 2004. p 29.4.
- Valdez, L.E.L. 2005. Ganancia en calidad nutrimental del grano como respuesta asociada a la selección para poliembrionía en maíz. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coah. Mex. 92 p.
- Vasal, S.K. 1994. High quality protein corn. In A.R. Hallauer, ed. Specialty corns. Boca Raton, FL, USA, CRC Press. p. 79-121.
- Vázquez, C.M.G., D. Escobedo M., A. González C., A. Turrent F. y C Tut C. 2005. Contenido de proteína, lisina y triptófano en maíces de calidad proteínica (ACP) con diferente manejo agronómico. Agric, Téc. Méx. Vol. 31(2): 191 – 202.
- Vidal, M.V.A., G. Vázquez C., B. Coutiño E., A. Ortega C., J.L. Ramírez D., R. Valdivia B., M. de J. Gerrero H., F. de J. Caro V. y O Cota A. 2008. Calidad Proteínica en colectas de maíces criollos de la sierra de Nayarit, México. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 31 (3): 15 -21.
- Villegas E., Ortega E., Bauer R. 1984. Chemical methods used at CIMMYT for determining protein quality in cereal grains. Mexico: CIMMYT. México. 35 p.
- Wassom, J. J., V. Mikkeleni, M. O. Bohn, and T. R. Rocheford. 2008. QTL for fatty acid composition of maize kernel oil in Illinois High Oil×B73 backcross-derived lines. Crop Sci. 48:69–78.
- Webber, J.M. 1940. Polyembryony. The Botanical Review. Vol. VI No. 1:575-594.
- Wydstrom, N.W. and Jellum, M.D. 1984. Chromosomal location of genes controlling oleic and linoleic acid composición in the germ oil of two maize inbreds. Crop Sci. 24: 1113, 1984.

## VIII. APÉNDICE

Figura A1. Programa general de cruzas entre la población BAP (D) y TAA (E), filiales y retrocruzas.

TEP O5-06	UA-06	TEP-06/07		UA-2008		
F <sub>1</sub>	F <sub>1</sub> , F <sub>2</sub> , RC <sub>1</sub>	F <sub>1</sub> , F <sub>2</sub> , F <sub>3</sub> , RC <sub>1</sub> , RC <sub>2</sub>	F <sub>1</sub> , F <sub>2</sub> , F <sub>3</sub> , RC <sub>1</sub> , RC <sub>2</sub>	F <sub>1</sub> , F <sub>2</sub> , F <sub>3</sub> , RC <sub>1</sub> , RC <sub>2</sub>	F <sub>1</sub> , F <sub>2</sub> , F <sub>3</sub> , RC <sub>1</sub> , RC <sub>2</sub>	
BAP x TAA → F1(F) (D) (E) 50:50*	E x F →	EF 25	EF x E →	EFxE 12.5	EF x E →	EFxE 12.5
			E x EF →	ExEF 12.5	E x EF →	ExEF 12.5
			EF x D →	EFxD 62.5	EF x D →	EFxD 62.5
			D x EF →	DxEF 62.5	D x EF →	DxEF 62.5
	F x E →	FE 25	FE x E →	FExE 12.5	FE x E →	FExE 12.5
			E x FE →	ExFE 12.5	E x FE →	ExFE 12.5
			FE x D →	FExD 62.5	FE x D →	FExD 62.5
			D x FE →	DxFE 62.5	D x FE →	DxFE 62.5
	D x F →	DF 75	DF x D →	DFxD 87.5	DF x D →	DFxD 87.5
			D x DF →	DxDF 87.5	D x DF →	DxDF 87.5
			DF x E →	DFxE 37.5	DF x E →	DFxE 37.5
			E x DF →	ExDF 37.5	E x DF →	ExDF 37.5
	F x D →	FD 75	FD x D →	FDxD 87.5	FD x D →	FDxD 87.5
			D x FD →	DxFD 87.5	D x FD →	DxFD 87.5
			FD x E →	FDxE 37.5	FD x E →	FDxE 37.5
			E x FD →	ExFD 37.5	E x FD →	ExFD 37.5
	D x E →	F1(F) 50	BAP x TAA →	F1(F) 50	BAP x TAA →	F1(F) 50
	F x F →	FF 50	F x F →	FF 50	F x F →	FF 50
			FF x FF →	FFF 50	FF x FF →	FFF 50

\* El Número debajo del genotipo formado indica la dosis de germoplasma PE:TAA

Figura A 1. Programa general de cruzas filiales y retrocruzas (continuación...).

TEP 05-06		UA-06		TEP-06/07		UA-2008			
F <sub>1</sub>		F <sub>1</sub> , F <sub>2</sub> , RC <sub>1</sub>		F <sub>1</sub> , F <sub>2</sub> , F <sub>3</sub> , RC <sub>1</sub> , RC <sub>2</sub>		F <sub>1</sub> , F <sub>2</sub> , F <sub>3</sub> , RC <sub>1</sub> , RC <sub>2</sub>			
TAA x BAP → F1(G) (E) (D) 50:50	}	E x G →	EG 25	EG x E →	EGxE 12.5	EG x E →	EGxE 12.5		
		E x EG →		E x EG →	ExEG 12.5	E x EG →	ExEG 12.5		
				EG x D →	EGxD 62.5	EG x D →	EGxD 62.5		
				D x EG →	DxEG 62.5	D x EG →	DxEG 62.5		
				G x E →	GE 25	GE x E →	GEE 12.5	GE x E →	GExE 12.5
				E x GE →		E x GE →	EGE 12.5	E x GE →	ExGE 12.5
				GE x D →	GExD 62.5	GE x D →	GExD 62.5		
				D x GE →	DxGE 62.5	D x GE →	DxGE 62.5		
				D x G →	DG 75	DG x D →	DGD 87.5	DG x D →	DGxD 87.5
				D x DG →		D x DG →	DDG 87.5	D x DG →	DxDG 87.5
				DG x E →	DGxE 37.5	DG x E →	DGxE 37.5		
				E x DG →	ExDG 37.5	E x DG →	ExDG 37.5		
				G x D →	GD 75	GD x D →	GDxD 87.5	GD x D →	GDxD 87.5
				D x GD →		D x GD →	DxGD 87.5	D x GD →	DxGD 87.5
				GD x E →	GDxE 37.5	GD x E →	GDxE 37.5		
				E x GD →	ExGD 37.5	E x GD →	ExGD 37.5		
				E x D →	F1(G) 50	E x D →	F1(G) 50	E x D →	F1(G) 50
				G x G →	GG	G x G →	GG	G x G →	GG
						GG x GG →	GGG	GG x G →	GGG
		C x C →	C	C x C →	C	C x C →	C	C x C →	C
D x D →	D	D x D →	D	D x D →	D	D x D →	D		
E x E →	E	E x E →	E	E x E →	E	E x E →	E		

**Cuadro A 1.** Comparación de medias, de las poblaciones base BAP y TAA, sus cruzas y retrocruzas; para las variables porcentaje de germinación (GE), poliembrión (PE), plantas anormales (AN), grasa cruda (GC), y proteína cruda (PC).

GEN	GE	PE	AN	GC	PC
D	93.0	65.5	7.3	5.6	8.5
DF	94.0	13.7	2.7	6.0	9.1
DFxD	96.7	27.7	4.7	6.7	9.8
DFxE	98.7	0.0	1.0	7.3	9.9
DG	98.0	12.8	2.7	6.5	9.9
DGxD	94.0	33.5	4.7	6.2	12.0
DGxE	99.7	0.0	2.7	6.7	11.5
DxDF	95.3	38.0	5.0	5.7	10.7
DxDG	96.7	39.2	2.7	6.3	11.1
DxEF	98.7	11.4	1.7	6.2	10.3
DxEG	97.3	6.3	2.3	6.4	9.2
DxFD	97.0	35.4	4.0	5.7	11.0
DxFE	97.3	10.3	3.3	5.8	10.7
DxGD	92.3	46.9	6.0	6.3	10.0
DxGE	97.0	15.8	4.0	6.1	8.9
E	98.0	0.0	2.3	8.3	10.3
EF	97.3	0.0	2.0	8.2	10.5
EFxD	98.7	3.1	3.0	6.8	11.2
EFxE	97.3	0.0	1.3	7.8	10.5
EG	99.3	0.0	2.3	8.3	10.6
EGxD	96.7	9.2	2.7	6.6	10.4
EGxE	99.7	0.0	1.0	7.2	10.6
ExDF	96.7	0.0	0.3	7.9	9.7
ExDG	98.0	0.0	0.7	7.8	11.7
ExEF	98.3	0.0	0.7	8.0	10.7
ExEG	97.3	0.0	1.7	7.8	11.1
ExFD	99.3	0.0	0.0	7.7	9.4
ExFE	98.3	0.0	0.7	8.2	9.5
ExGD	96.0	0.0	0.0	7.9	10.6
ExGE	93.7	0.0	0.3	7.6	12.0
F	99.7	0.0	2.3	6.2	10.6
FD	97.3	10.9	2.7	6.3	9.7
FDxD	97.0	26.3	5.7	7.0	10.1
FDxE	97.3	0.0	3.0	7.3	12.2
FE	95.7	0.0	0.3	6.7	9.6
FExD	98.0	4.0	2.7	7.4	11.2
FExE	97.0	0.0	0.7	8.3	11.6
FF	99.3	1.6	1.7	7.0	9.5
FFF	99.0	2.0	1.0	7.6	10.5
G	99.3	0.0	0.3	7.6	9.6
GD	98.3	10.7	1.7	6.5	9.9
GDxD	98.3	34.3	3.3	6.5	10.4
GDxE	97.7	0.0	1.3	6.9	11.6
GE	98.7	0.0	1.0	7.1	11.6
GExD	98.3	3.2	2.3	6.6	10.5
GExE	98.0	0.0	1.0	7.4	11.7
GG	98.0	1.9	0.7	7.4	11.3
GGG	98.7	5.2	4.3	7.0	8.7
C	95.0	59.3	5.0	5.6	9.7
CxE	98.7	0.0	1.7	6.3	9.9
ExC	99.0	0.0	1.0	7.4	11.8
AN-447	84.0	0.0	3.3	4.9	11.6
Media General	97.17	10.15	2.32	6.93	10.48
Tukey ( $p \leq 0.05$ )	6.2062	12.3030	5.8541	1.1223	1.5616
Error Estandar	1.8362	3.6400	1.8760	0.3320	0.4620

C, D, E Población NAP, BAP y TAA respectivamente; F = Cruza Dx E, G = Cruza Ex D; F, FF, FFF y G, GG, GGG se refiere a la F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> y F<sub>3</sub> para F y G respectivamente.