

PARÁMETROS GENÉTICOS Y DESARROLLO DE RADÍCULA EN MAÍCES POLIEMBRÓNICOS

JOSÉ MANUEL ALCALÁ RODRÍGUEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para
obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN
FITOMEJORAMIENTO**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Junio de 2009

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

**DIRECCIÓN DE POSTGRADO
PARÁMETROS GENÉTICOS Y DESARROLLO DE RADÍCULA EN MAÍCES
POLIEMBRÓNICOS**

T E S I S

POR:

JOSÉ MANUEL ALCALÁ RODRÍGUEZ

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada
como requisito parcial, para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN
FITOMEJORAMIENTO**

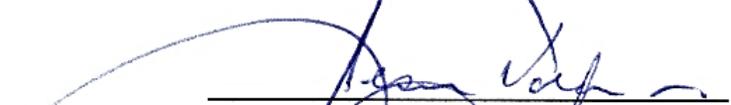
COMITÉ PARTICULAR

Asesor principal:



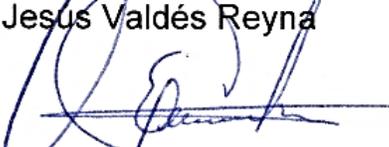
Dr. José Espinoza Velázquez

Asesor:

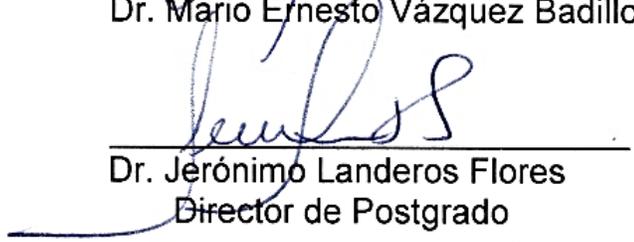


Dr. Jesús Valdés Reyna

Asesor:



Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo



Dr. Jerónimo Landeros Flores
Director de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Junio de 2009

DEDICATORIAS

A mis padres: Elvira y Juan Manuel

Por ser mi fortaleza y motivación para enfrentar y superar los obstáculos de la vida; por el cariño incondicional que me han otorgado en toda mi vida, también por sus consejos que me han orientado a ir por el mejor camino.

A mis hermanas: Miriam y Erika

Por todos los momentos felices y por todo su cariño, confianza y apoyo incondicional que me han brindado siempre.

A mis sobrinos: Jesús Emmanuel, Yahaira, Valeria, Ximena, Evelyn y Melina

Por darle alegría a mi vida y a toda mi familia, también por ser la fuerza que me impulsa a seguir adelante.

A mis tíos:

Por ofrecerme su apoyo y por sus consejos que me han servido en demasía en cada logro de mi vida.

A mis abuelos: Soledad, Jesús y María

Por su infinito cariño demostrado; le doy gracias a Dios por conservarlos con bien y darles la oportunidad de ver mi superación.

A todos ellos Dios los bendiga y los conserve a mí lado por mucho tiempo

AGRADECIMIENTOS

A ti mi **Dios**, por permitirme vivir e iluminar mi camino; por permitir cumplir una meta más en mi vida y darle una satisfacción más a mis padres; también por darme la fortaleza y salud; también ayudarme en la búsqueda de respuesta a mis problemas.

A mi “ALMA MATER”. Por permitirme ser uno más de sus hijos desde el primer día que ingrese a ella y hasta el final de mi carrera, por su ayuda en el crecimiento personal y académico que me servirá por el resto de mi vida.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por el apoyo económico otorgado para realizar los estudios de Postgrado.

Mi más sincero agradecimiento al **Dr. José Espinoza Velásquez**, por haberme aceptado como su tesista, así como su apoyo, motivación, tiempo y dedicación que fueron muy importantes. Gracias también por su paciencia y en general por todo el apoyo que me brindó para realizar exitosamente éste trabajo e influir en mi superación personal.

Al **Dr. Mario Vázquez Badillo** por el apoyo brindado en la realización de este trabajo, y más importante aún el apoyo y el interés otorgado para ver realizado esta meta tan importante en mi vida.

Al **MC. Daniel Sámano Garduño** por ser un ejemplo de esfuerzo para los alumnos de fitomejoramiento, agradezco su sinceridad, humildad y todo el apoyo que me brindó para realizar este trabajo.

Al **Dr. Jesús Valdés Reyna** por el apoyo brindado para la realización de este trabajo.

Al **Instituto Mexicano del Maíz “Dr. Mario Castro Gil” (IMM)** por haberme permitido utilizar sus instalaciones y materiales incluidos en este trabajo.

A los compañeros trabajadores del IMM **Catarino, Rogelio y Jesús Zabala**, los cuales fueron un factor importante para llevar a cabo este trabajo de investigación.

A mis compañeros del Postgrado en Fitomejoramiento: **Olga Lilia, Alberto Peña, Rigoberto, Samuel, Pedro, Ezequiel, Cristobal, Yanci, Noé Musito, Hermes, Diego Barbosa, Estela, Aimer, MC. Víctor Parga, MC. Víctor González;** y a mis amigos: **Bety, Lulú, Samuel Valencia, Antonio Niño, MC. Gerardo Sánchez, Ing. René** y a todos aquellos que me brindaron su sincera amistad y compartir grandes momentos que jamás olvidaré.

PARÁMETROS GENÉTICOS Y DESARROLLO DE RADÍCULA EN MAÍCES POLIEMBRÓNICOS

Por

José Manuel Alcalá Rodríguez

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN
FITOMEJORAMIENTO**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Junio 2009

Dr. José Espinoza Velázquez ---Asesor---

Palabras clave: *Zea mays* L., poliembrionía, radículas múltiples por semilla, parámetros genéticos.

La raíz es un órgano esencial en el desarrollo y producción de los cultivos agrícolas. Por tiempo prolongado los fitomejoradores han enfocado su atención en las cualidades aéreas de las plantas y han ignorado el desarrollo del sistema radical; esto debido en parte a la dificultad de observar el desarrollo de la raíz bajo condiciones naturales. Por otro lado, el desarrollo de variedades de maíz de alto rendimiento es un proceso largo y costoso; esto hace que los fitomejoradores busquen o exploren métodos rápidos y accesibles que involucren el comportamiento de genotipos durante etapas tempranas de desarrollo, los cuales ayuden a predecir el establecimiento y producción de híbridos sobresalientes. En concordancia con lo anterior, este trabajo de

investigación propone el estudio de nueve genotipos de maíz evaluados en tres diferentes etapas de desarrollo: el primero corresponde a un estudio histológico de radícula de tres días post-germinación; el segundo aborda características de plántula a los 21 días de edad bajo condiciones de invernadero; y el tercero califica el comportamiento productivo de estos genotipos en estado adulto, en dos localidades de prueba. Los nueve genotipos utilizados se describen como sigue: tres poblaciones de maíz con características especiales *i.e.* dos de ellas poseen alta frecuencia poliembriónica (PE), denominadas NAP o C (normal de alta poliembriónía) y BAP o D (braquítica de alta poliembriónía), ambas generadas en el Instituto Mexicano del Maíz “Dr. Mario E. Castro Gil” (IMM) en Saltillo, Coah. México; la tercera población, exótica a las dos primeras, abiertamente No-PE, denominada Tuxpeño (E), muestra otorgada por CIMMYT, y que cuenta entre sus principales características el alto contenido de aceite en grano; los otros seis genotipos se refieren a las cruzas directas y recíprocas entre las tres poblaciones, generadas de acuerdo al método I de los diseños dialélicos de Griffing (1956). La aplicación de éste, permitió estimar parámetros genéticos como aptitud combinatoria general y específica, efectos recíprocos y heterosis.

El desarrollo del primer experimento permitió observar la aparición de radícula en todos los genotipos; esto permitió también documentar la presencia de radículas individuales y múltiples por semilla en las poblaciones PE y los genotipos híbridos generados al cruzarse entre ellas. La frecuencia PE y de radículas múltiples se presentó en el orden de 60 % y 14% respectivamente; mas esta característica se perdió por completo en híbridos F₁ con Tuxpeño,

manifestándose de este modo la PE como un carácter recesivo. Las variables relativas al estudio histológico longitudinal (número de primordios de radícula y longitud de células corticales) y transversal (número de capas del córtex), se vieron favorecidas por la hibridación entre genotipos PE y E. En específico, los mejores genotipos en estas variables fueron los híbridos D x E y C x E, en tanto, para el número de metaxilemas, la combinación C x D resultó ser la más sobresaliente. En este estudio, se logró documentar al menos tres diferentes versiones en la formación de radículas múltiples individualizadas o con cierto grado de fusión exclusivos de genotipos PE.

En el estudio de plántula de 21 días de edad, se validó el fenómeno de radículas múltiples influido por la poliembrionía (PE), observándose en proporciones de 7 a 18%; mientras que la frecuencia de la PE se presentó en el orden de 62%. Adicional a esto, se corroboró que la PE se comporta como carácter recesivo en F₁. A la edad señalada, los genotipos alcanzaron diferente estado de desarrollo (V3 y V4); la mayoría de las variables estudiadas mostraron que las hibridaciones de PE con Tuxpeño resultaron ser las más eficientes. La producción de materia seca radical solo representó el 60% del aporte total de la parte aérea de los genotipos en general; por tal motivo la condición de dos radículas y número de tallos presentes por plántula en maíces PE, no confirió ventaja aparente en esta etapa de desarrollo.

El estudio de comportamiento productivo en plantas adultas permitió establecer que los genotipos No-PE mostraron mejor comportamiento agronómico, por arriba de los PE en las dos localidades de evaluación; estas características se vieron reflejadas en precocidad, menor acame de raíz y, por

ende, mayor rendimiento de mazorca. Los genotipos de mejor respuesta en esta etapa de evaluación fueron C x E y D x E.

La estimación de parámetros genéticos en las tres etapas de estudio permiten señalar que los efectos genéticos aditivos se presentaron sólo en la variable longitud de células corticales LCC (primer estudio), número de hojas NH (en segundo estudio), y para todas las variables agronómicas (ensayo de producción); en tanto, los efectos recíprocos se presentaron en número de células corticales NCC, número de metaxilemas (NMX), peso seco de raíz (PSR) y peso seco de parte aérea (PSPA). La población E resultó el mejor genotipo para heredar características en etapa de plántula y características agronómicas por sus valores de ACG. Los híbridos con los mayores estimados de ACE fueron C x E y D x E, mismos que presentaron los mejores estimados de heterosis en la mayoría de las características estudiadas en las tres etapas de evaluación. La correlación de caracteres estudiados en las tres etapas de desarrollo mostró una asociación inconsistente entre variables; sin embargo, se registró correlación positivas y negativa baja pero significativa en plántula de 21 días en cuanto a número de hojas (NH) con todas las variables agronómicas. Esto indica que un buen establecimiento de plántula pudiera tener una influencia determinante en el desarrollo del cultivo, rendimiento incluido. Los genotipos C x E y D x E presentaron el mejor comportamiento a través de las tres etapas de evaluación.

ABSTRACT**GENETIC PARAMETERS AND RADICLE DEVELOPMENT IN
POLYEMBRYONIC MAIZE**

By

José Manuel Alcalá Rodríguez**MASTER OF SCIENCE IN
PLANT BREEDING****UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**
Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Junio, 2009**Ph. D. José Espinoza Velázquez ---Advisor---**

Key words: *Zea mays* L., polyembryony, multiple radicles per seed, genetic parameters estimates.

The root is an essential organ in crops development and production in agriculture. For many years plant breeders have focused their attention to the canopy part and ignored the development of the radical system, this because of the difficulty of observing the root development under natural conditions. On the other hand, the development of high yield maize varieties is a long and expensive process. However, this can be seen as an opportunity to explore quick and accessible methods where the evaluation of genotypes in early stages of development can help to predict the establishment and production of

outstanding hybrids. In agreement with all of that, this research work proposes the evaluation of nine maize genotypes in three different developmental stages: the first one corresponds to a histological study of radicle of three days post-germination; the second undertakes the evaluation of seedlings traits at 21 days of age under greenhouse conditions; and the third stage refers to run two performance assays for agronomical evaluation of the genotypes under study, two locations. The nine maize genotypes used are described as follows: three populations with special characteristics *i.e.* two of them have the polyembryony mutant in high frequency (PE), named here as NAP or C (normal height, high polyembryony) and BAP or D (brachytic, high polyembryony), both generated in the Instituto Mexicano del Maíz Dr. Mario E. Castro Gil" (IMM) in Saltillo, Coahuila, México; the third is a No-PE population, exotic to the former two, and named as Tuxpeño (E) a high oil corn material which was provided by CIMMYT. The other six genotypes were the resulting direct and reciprocal crosses among the former three populations, using a diallel mating design equal to the Griffing (1956) method I. The application of this method, allowed to estimate genetic parameters as general and specific ability, reciprocal effects and heterosis.

The first experiment allowed the observation of radicle appearance at all the nine genotypes at the stage of three days of age; it was also possible documenting the presence of individual and multiple radicles per seed in the PE populations and the hybrids generated among them. The PE and the multiple radicles frequencies in F₁ progenies from hybrids between crossings among C and D populations were 60 % and 14% respectively; however, both

characteristics were completely absent in the F₁ hybrids derived from crossings between C or D with Tuxpeño, supporting previous evidences of the recessive nature of PE. The related variables to anatomic and histological traits such as radicle primordium number and length of cortical cells and also traverse layer cortical number, were favored by the hybridization among genotypes PE and E. Specifically, the best genotypes in these variables were the hybrid D x E and the C x E, meanwhile, for the metaxilemas number, the combination C x D was the highest. In this study, it was remarkable that the PE seedlings showed two to three radicles, ones were fully separated and others were joined partially or completely.

The results from the experiment with seedlings of 21 days validated that the multiple radicles phenomena was influenced by PE, and it was found in proportions from 7 to 18%, meanwhile the PE frequency was shown in the order of 62%. It was also confirmed that the PE behaves as recessive trait in F₁. At this age, the genotypes reached different developmental stages (V3 and V4), most of the studied variables showed that the hybridizations of PE genotypes with Tuxpeño turned out to be the most efficient. In general, it can be said that radical dry matter represented only 60% of the total canopy dry mater weight in all genotypes, what for the condition of two or more radicles and multiple plumules per seedling in PE maize did not confer apparent advantage at this developmental stage.

The two yield performance assays allowed to settle down that the Not-PE genotypes showed a better agronomic performance compared to the PE

genotypes, in regard to precocity, minor root logging, and higher ear yield. The superior performance genotypes at this stage were C x E and D x E.

The estimates of genetic parameters in the three study lead to state that the genetic additive effects were presented only in the variable cortical cells length LCC (first study), leaves number NH (second study), and for all the agronomic traits (third study), while the reciprocal effects were presented in cortical cells number NCC, metaxilemas number (MXN) and dry root weigh (PSR) and canopy dry weight (PST). The E population was the best genotype to inherit characteristic in both seedling stage and agronomic traits given its ACG values. The hybrids with the best ACE values were C x E and D x E, and also the better heterosis values in most of the characteristics studied in the three evaluation stages. The correlation coefficients obtained along experiments showed an inconsistent association among variables; however, it was calculated a low but significant positive and negative correlation between seedlings leaves number (NH) with all the agronomic traits. This may indicates that a good seedlings setting leads to a better crop development, yield included. The genotypes C x E and D x E presented the best performance throughout the three evaluation stages.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivos	4
1.2 Hipótesis.....	5
II. REVISIÓN DE LITERATURA	6
2.1 La Raíz en Maíz	6
2.2 Anatomía Funcional de la Raíz en Maíz.....	11
2.3 Mutantes que Afectan la Formación del Sistema Radical del Maíz....	13
2.4 Poliembrionía en Plantas (PE)	14
2.5 Poliembrionía en Maíz	16
2.6 Variantes de Raíz de la Poliembrionía en Maíz	18
2.7 Parámetros Genéticos por Vía de Diseños Dialélicos.....	19
2.8 Heterosis.....	23
2.9 Vigor Inicial y su Relación con Características de Planta Adulta	25
III. MATERIALES Y MÉTODOS	28
3.1 Generalidades de los experimentos	28
3.2 Material genético.....	29
3.3 Experimento 1. Análisis Histológico de Radículas de Tres Días de Edad	30
3.4 Experimento 2. Desarrollo de Plántulas en Invernadero	33
3.5 Experimento 3. Ensayo de Rendimiento	36
3.6 Diseños Dialélicos de Griffing	40
3.7 Análisis para Efectos de Heterosis.....	43

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
4.1 Experimento 1. Análisis Histológico de Radículas de Tres Días de Edad.....	44
4.2 Experimento 2. Desarrollo de Plántulas en Invernadero	58
4.3 Experimento 3. Ensayo de Rendimiento	69
4.4 Parámetros Genéticos y Heterosis.....	75
4.5 Correlación de Caracteres de Plántula y Planta Adulta	87
V. CONCLUSIONES	92
VI. RESUMEN	96
VII. LITERATURA CITADA	99
VIII. APÉNDICE	109
ÍNDICE DE CUADROS	xvi
ÍNDICE DE FIGURAS	xviii

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Pág.
4.1	Valores promedio y desviación estándar de las tres primeras variables fenotípicas de los genotipos PE y No-PE 45
4.2	Valores promedio y coeficiente de correlación de variables medidas en cortes histológicos en radículas de tres días..... 48
4.3	Cuadrados medios y significancia de variables relevantes en cortes histológicos en radícula de 3 días de edad 53
4.4	Media y desviación estándar para germinación y dos variables exclusivas del fenómeno PE medidas a los 21 días de edad..... 59
4.5	Cuadrados medios y significancia; valores promedio de variables, prueba de Tukey $\alpha=0.05$, y otros estadísticos, en plántulas de maíz a los 21 días de edad, bajo invernadero..... 64
4.6	Cuadrados medios y significancia de nueve genotipos de maíz, evaluados en dos localidades 70
4.7	Valores promedio y desviación estándar de las tres variables agronómicas de los genotipos PE y No-PE 71
4.8	Cuadrados medios y significancia estadística de nueve genotipos de maíz en etapa de radícula de tres días de edad y plántula de 21 días... 76
4.9	Cuadrados medios y significancia estadística de nueve genotipos de maíz en etapa de planta adulta 76
4.10	Contribuciones de varianza genética, a partir de la descomposición de la suma de cuadrados de la fuente de variación genotipos en las tres etapas de evaluación..... 78
4.11	Efectos de aptitud combinatoria general, específica, efectos recíprocos estimados bajo el método I de Griffing en tres poblaciones de maíz en tres etapas de desarrollo 81

4.12	Por ciento de heterosis para diferentes variables, etapas diferentes de desarrollo, en cruzas de tres poblaciones de maíz.....	86
4.13	Valores promedio de atributos de plántulas en etapa juvenil y caracteres agronómicos en planta adulta.....	89
4.14	Coefficientes de correlación entre caracteres de planta juvenil y caracteres agronómicos en planta adulta.....	90

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
4.1 Microfotografías representativas de la sección longitudinal de radícula a los 3 días de edad.....	52
4.2 Gráficos de variables que mostraron diferencias estadísticas entre genotipos (Tukey $\alpha=0.5$)	54
4.3 Sección transversal de radícula a los 3 días de edad.....	56
4.4 Plántulas de maíz de 21 días de edad.....	62

I. INTRODUCCIÓN

La raíz es fundamental en la productividad de los cultivos; la aptitud para crecer y fructificar está gobernada por un sistema radical funcional y eficiente, sobre todo en condiciones agrícolas de bajos contenidos de agua y nutrientes (Lynch, 1995; Hochholdinger, 2009). Un sistema radical sano es determinante en el desarrollo de todos los órganos aéreos de la planta (Tuberosa y Salvi, 2007); son estas razones suficientes para incluir características de la raíz en fitomejoramiento de los cultivos (Mc Phee, 2005), así como estudios relativos al análisis genético de la formación y desarrollo de la raíz (Hochholdinger, 2004a; 2009).

El sistema radical del maíz inicia con el desarrollo de la radícula (Ritchie *et al.* 1992; Hochholdinger, 2009). Las raíces embrionarias incluyen normalmente la radícula y un variable número de raíces seminales laterales; el crecimiento y desarrollo de éstas ocurre rápidamente, y disminuye cuando la plántula alcanza el estado de tres hojas (V3, Ritchie *et al.*, 1992), tiempo en que se consolida el establecimiento de las raíces definitivas, denominadas nodulares o de corona, aunque éstas inician su desarrollo desde la etapa V1. Este sistema radical de desarrollo postembrionario se torna el principal proveedor de agua y nutrientes cuando la plántula alcanza el estado V6. Sin embargo, las raíces embrionarias continúan funcionando en todo el ciclo de vida del maíz (Ritchie *et al.*, 1992; Hochholdinger, 2004a; 2009).

Aun con esta importancia agronómica de la raíz y sus implicaciones en el desarrollo de la planta, los estudios genéticos sistemáticos de raíz se han apenas iniciado (Feix *et al.*, 2002). Por otro lado, los fitomejoradores se han centrado en las cualidades de la parte aérea de las plantas y han ignorado por mucho tiempo la condición de raíz, esto en parte debido a la dificultad de observar el crecimiento de la raíz en condiciones naturales.

En la diversidad natural del maíz, la presencia del fenómeno reproductivo conocido como poliembrionía (PE), está documentado ampliamente en varias especies desde Webber (1940) y fue observado experimentalmente de manera amplia por primera vez en maíz por Morgan y Rappleye (1951). Esta condición le confiere a una semilla de maíz la capacidad de emitir dos y hasta siete plántulas potencialmente productivas.

El maíz común exhibe invariablemente una radícula a la germinación; la condición PE entre sus implicaciones, permite la aparición de dos o más plántulas, situación que puede propiciar la emisión de radículas múltiples (Espinoza *et al.*, 2007). Estudios preliminares (Espinoza *et al.*, 2006; Alcalá, 2006) permitieron observar que plántulas PE presentan una proporción baja, pero importante de dos y hasta tres radículas por semilla.

Por otra parte, el desarrollo de variedades de maíz de alto rendimiento es un proceso largo y costoso, condición que da la oportunidad a los fitomejoradores a explorar métodos rápidos y más económicos, que involucren el comportamiento de los genotipos durante etapas tempranas de su desarrollo,

cuyos resultados permitan confiablemente predecir un buen establecimiento y producción de híbridos sobresalientes.

En este contexto, se han estudiado varias técnicas para medir la relación entre características de planta juvenil y planta adulta, entre ellas esta la correlación de rango incluyendo caracteres agronómicos y parámetros genéticos. Esto puede ser una herramienta útil en programas de mejoramiento genético de cultivos.

Aunado a lo anterior, los sistemas de apareamiento genéticos denominados dialélicos se han usado con éxito en el fitomejoramiento, tanto en líneas como en poblaciones, para estimar efectos de aptitud combinatoria general (ACG) y específica (ACE), componentes de varianza, niveles de heterosis y heredabilidad. Griffing (1956) estableció cuatro métodos de diseños dialélicos para estimar ACG y ACE, los cuales son adecuados cuando el número de progenitores es reducido.

Considerando los razonamientos anteriores, en este trabajo de tesis se estudia las características de radícula muy joven y su relación con el desarrollo del sistema radical seminal y de la parte aérea en plántulas de 21 días de edad y la producción de plantas adultas, bajo los siguientes objetivos e hipótesis.

1.1 OBJETIVOS

1. Realizar un análisis histológico de radícula en genotipos de maíz poliembriónicos (PE), No-PE y sus cruzas, con la finalidad de obtener información sobre la organografía y estructura celular de este órgano en etapa temprana de desarrollo.
2. Calificar en invernadero y campo a estos genotipos en su relación de planta juvenil y su comportamiento productivo en planta adulta.
3. Valorar el comportamiento genético y agronómico de las poblaciones NAP, BAP y Tuxpeño *per se* y a través de cruzamientos derivados de la aplicación de un diseño de apareamiento dialélico completo.

1.2 HIPÓTESIS

1. La poliembrionía presenta procesos especiales en el desarrollo radical seminal.
2. Un buen establecimiento de plántula y producción de materia seca puede reflejarse en mejores características agronómicas e impactar positivamente el rendimiento.
3. La variabilidad genética presente en los grupos germoplásmicos utilizados en este trabajo influirá de manera positiva en la expresión genética y agronómica de sus combinaciones híbridas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 La Raíz en Maíz

La raíz es un elemento fundamental en la productividad de la planta, específicamente en ambientes caracterizados por bajos contenidos de agua y nutrientes, por lo que la aptitud de las plantas para crecer y producir semillas estará gobernada por un sistema radical funcional y eficiente (Mandelbrot, 1983; Lynch, 1995; Aiken y Smuker, 1996).

La formación del sistema radical en maíz es regulada por un programa genético endógeno, pero también por interacciones de la rizósfera y una flexible adaptación a señales ambientales (McCully, 1999; Feix *et al.*, 2002; Hochholdinger *et al.*, 2004a, 2004b; Bais *et al.*, 2006; Watt *et al.*, 2006).

El sistema radical del maíz consiste de raíces seminales que son formados durante la embriogénesis, y de raíces definitivas que son formadas durante el desarrollo post-embrionario. Las raíces embrionarias se constituyen por la radícula, que es formada en la base del embrión y un número variable de raíces seminales laterales que se forman bajo el nudo escutelar. El sistema radical post-embrionario está compuesto por las raíces nodulares que se forman en los nudos consecutivos del tallo y las raíces laterales, que son

iniciadas en el periciclo de todas las raíces principales (Abbe y Stein, 1954; Feldman, 1994; Hochholdinger, 2004a; 2004b; y 2009).

2.1.1 Formación de la Raíz Embrionaria

En contraste a la radícula de varias angiospermas, que son formadas exógenamente, la raíz primaria en maíz es formada dentro del embrión (endógenamente) y se hace visible como una región distinguible en 10 a 15 días después de la polinización; este proceso de radícula no es encontrada en otra familia fuera de las Poáceas. El término endógeno, implica que el ápice de la raíz, incluyendo la cofia, penetra y rompe otros tejidos para hacerse visible. El tejido que es dañado durante la emergencia de la radícula es llamado coleorriza (Yamashita, 1991; Yamashita y Ueno, 1992; Tillch, 1997).

Las raíces laterales seminales que emergen del nudo escutelar son también formadas endógenamente y se hacen visibles en el embrión entre los 22 y 40 días post-polinización. Las raíces laterales seminales no forman coleorriza desde el nudo escutelar, el cual está ya diferenciado cuando las raíces laterales seminales emergen y puede ser fácilmente penetrado. El número de las raíces laterales seminales es variable de 0 a 13 y dependen fuertemente del fondo genético de la plántula (Kiesselbach, 1949; Erdelska y Vidovencova, 1993; Sass, 1977; Feldman, 1994).

La radícula y las raíces seminales pueden persistir y permanecer funcionales durante todo el ciclo de vida de la planta de maíz (Kiesselbach,

1949; Kausch, 1967; Kozinka, 1977, McCully y Canny, 1985). Algunos autores han observado que la radícula y las raíces laterales seminales mueren después de la formación del sistema de raíz post-embrionario (Lawson y Hanway, 1977; Feldman, 1994). Ritchie *et al.*, (1992) señalan que el sistema radical seminal es reemplazado por el establecimiento de las raíces definitivas (nodulares y adventicias) pero la radícula y las raíces laterales de esta, pueden funcionar largamente, inclusive hasta la etapa reproductiva. En este contexto, Hetz (1996) menciona que la radícula y las raíces laterales por si solas son suficientes para formar una planta madura, característica mostrada por el mutante monogénico recesivo (*rtcs*), el cual permite la formación de radícula y raíces laterales pero no raíces nodulares.

2.1.2 Formación de Raíz Post-embrionaria Temprana

Tradicionalmente, la morfología del maíz se distingue entre desarrollo de raíz embrionaria y post-embrionaria. Ahora, como resultado de la reciente identificación de nuevos mutantes, Hochholdinger *et al.*, (2004a) sugieren que el desarrollo post-embrionario de raíz sea subdividido en fase temprana y tardía, las cuales son reguladas por diferentes genes.

Durante las dos primeras semanas post-germinación, el desarrollo de la radícula y las raíces seminales laterales, componen la mayor parte del rizoma en las plántulas. Después, las raíces post-embrionarias (RPE) emergidas de la parte basal del tallo son las que dominan y forman la mayor proporción del

sistema radical del maíz. El desarrollo temprano de RPE está caracterizado por dos tipos de raíz: 1) Las raíces laterales que emergen de la radícula y de las raíces seminales laterales en 6 a 7 días después de la formación de las raíces principales, y las raíces nodulares que son formadas en el nudo coleoptilar en 10 a 14 días después de la germinación.

Las raíces laterales tienen una fuerte influencia en la arquitectura de la raíz y son responsables de la obtención en mayor parte de agua y nutrientes necesarios para la planta de maíz debido a su capacidad de anclaje y dirección a las raíces secundarias, terciarias y de más altos ordenes (McCully y Canny, 1988; Wang *et al.*, 1994; Lynch, 1995).

2.1.3 Formación de Raíz Post-embrionaria Tardía

Las raíces nodulares son formadas endógenamente, como todas las raíces provenientes del tallo, y sus primordios son formados a lados opuestos de los haces vasculares. El desarrollo tardío de las raíces post-embrionarias es caracterizado por las raíces nodulares y las raíces de sostén. El rizoma del maíz desarrolla cerca de 70 raíces de tallo (nodulares) durante su ciclo de vida, que son organizadas en 6 cogollos bajo la superficie del suelo y 2-3 cogollos de raíces de soporte por encima de la superficie (Martin y Harris, 1976; Hoppe *et al.*, 1986).

La transición entre el desarrollo temprano y tardío del sistema de raíz post-embrionario inicia a los 3 ó 4 semanas después de la germinación, con la

formación de raíces en el primer cogollo, al segundo, y nudos subsecuentes hasta el séptimo nudo. El diámetro medio y el número de raíces del tallo por cogollo incrementan sus valores en nudos más altos (Hoppe *et al.*, 1986). Las raíces nodulares forman la mayor parte del rizoma adulto y son la base para establecer resistencia en la planta, así como las responsables en mayor medida de la absorción del agua (McCully y Canny, 1988; Ritchie *et al.*, 1992).

Por otro lado, los diferentes tipos de raíz en el maíz son formados en diferentes fases de desarrollo y en diferentes posiciones de la planta (Hochholdinger, 2009). En el proceso de germinación, la radícula es la primera parte anatómica en iniciar su desarrollo desde el interior de la semilla seguido por el coleoptilo, incluida la plúmula, y de tres a cuatro raíces seminales laterales; fenómeno que se presenta antes de la emergencia como lo señalan Ritchie *et al.*, (1992). El crecimiento de estas raíces sin embargo, se detiene pronto después de la aparición de la tercera hoja (etapa vegetativa a la tercera hoja V3).

Una planta joven de maíz depende sobre todo de las reservas de energía de la semilla, hasta que las raíces nodulares, sean las permanentes y se establezcan. Dentro de algunos días, después de la emergencia del coleoptilo al primer nivel del suelo, estas raíces comienzan a desarrollarse durante la aparición de la primera hoja (V1), a partir de la región nodular e internodular de la corona ó cuello de la futura planta. Por la etapa V6 (aparición de la sexta hoja) el crecimiento de estas raíces ha llegado a su establecimiento pleno y han

asumido el control total en la sustentación de la planta; estas raíces se dedicaran a trabajar para lograr la expresión y la producción materia seca total de la planta, incluyendo la producción de mazorcas (Ritchie *et al.*, 1992; Nielsen, 2001).

Aunque no hay estimaciones cuantitativas del todo válidas de la magnitud e importancia de la depresión de la productividad de la planta por carencias de raíz, la importancia de la arquitectura de ésta en la productividad de la planta proviene en realidad de la disponibilidad y distribución de los recursos del suelo. Así que el despliegue espacial de la raíz estará en gran medida determinado por la habilidad de la planta para aprovechar estos recursos. En este sentido, la arquitectura de la raíz es un aspecto fundamental en la productividad de la planta, especialmente en ambientes caracterizados por bajos contenidos de agua y nutrientes (Lynch, 1995).

2.2 Anatomía Funcional de las Raíces en Maíz

2.2.1 Organización Transversal

La radícula y las raíces seminales laterales como las raíces nodulares muestran una organización multi-circular, y en medio de ellas exhiben un cilindro central con muchos brazos de xilema. La radícula madura muestra de 6 a 10 elementos de metaxilema, mientras que las raíces nodulares pueden

contener más de 48 elementos de estas estructuras y se incrementan en las raíces de nudos más altos (Tillich, 1992; Feldman, 1994).

El periciclo forma una capa extrema del cilindro central. El tejido en contacto con el suelo consiste en una capa de tejido endodérmico con la banda de Caspari, que representa una barrera de resistencia variable del flujo radial de agua y nutrientes (Hose *et al.*, 2001) y varias capas (8 a 15) de tejido parenquimatoso (córteX). La capa exterior es formada por la epidermis (a veces denominada como rizodermis); ésta es una capa de células que se encargan de la formación de pelos en la raíz, *tricoblastos* y no formación de pelos *atricoblastos*. El arreglo de *trico* y *atricoblastos* es irregular, así que no es fácil predecir cual célula formará pelos en la raíz. En raíces viejas, la vida de la epidermis es corta, ya que se desarrolla en el extremo de las células del córtex y forma una banda de Caspari adicional (Feldman, 1994). En la formación de las raíces de soporte bajo el suelo, la epidermis persiste y forma una cutícula protectora.

2.2.2 Organización Longitudinal

Tradicionalmente, la estructura longitudinal de la raíz en maíz es descrita en términos de zonas especializadas de desarrollo, y generalmente incluye: la cofia o caliptra; el meristemo apical y la zona de alargamiento distal; la zona de elongación; y la zona de maduración (Ishikawa y Evans, 1995). La cofia cubre la punta de la raíz y secreta mucílago, el cual facilita el movimiento y crecimiento de la raíz en el suelo.

Próximo a la cofia está el ápice subterminal de la raíz, que consiste en un centro quiescente (QC); es una región mitóticamente inactiva, consistente en unas 800 a 1200 células (Jiang *et al.*, 2003) y es rodeado por el meristemo distal y proximal. Seguido al meristemo proximal está la zona de elongación distal, donde nuevamente las células generadas empiezan su elongación; estas células son difíciles de clasificar debido a su actividad mitótica. La zona de elongación distal está bordeada por la zona de crecimiento, donde las células no se dividen más, pero se alargan al máximo. Más allá de la zona de elongación está la zona de maduración, la cual está indicada por la formación de pelos radicales (Ishikawa y Evans, 1995).

2.3 Mutantes que Afectan la Formación del Sistema Radical

Los mutantes que afectan el desarrollo de plantas monocotiledóneas son considerablemente menores que los detectados en las dicotiledóneas. Sin embargo, el desarrollo de raíz en cereales está caracterizado por un creciente número de mutantes adversos. En maíz, este tipo de genes tienen un efecto aberrante en el desarrollo del sistema radical. Es relevante mencionar que muchos de esos mutantes muestran un fenotipo específico en un tipo de raíz, sin afectar a otros tipos principales (Hetz *et al.*, 1996; Hochholdinger y Feix, 1998; Woll y Hochholdinger, 2004b; Hochholdinger, 2009).

Los mutantes que afectan el desarrollo de la raíz en maíz pueden ser clasificados como espaciales o temporales. La clasificación espacial distingue,

acorde al tipo de raíz afectado, entre mutantes de raíces nodulares (*rt1*, *rtcs*); raíces laterales (*rum1*, *lrt1*, *slr1*, *slr2*); y formación de pelos radicales (*rth1*, *rth2*, *rth3*). La clasificación temporal está basada en la fase de desarrollo que es afectada por estos mutantes (Jenkins, 1930; Wen y Schnable, 1994; Hetz *et al.* 1996; Hochholdinger y Feix, 1998; Hochholdinger y Feix, 2001; Hochholdinger, 2004a; 2004b; Woll *et al.*, 2004; Hochholdinger *et al.*, 2008; 2009).

Los mutantes *lrt1*, *rum1*, *rtcs* son de herencia monogénica; la segregación de estos se ajusta a la herencia Mendeliana en proporción de 3:1 en F₂. Estos mutantes han sido objeto de interés experimental; con ello se han determinado y clasificado diferentes etapas de desarrollo del sistema radical en maíz. Estas etapas y tipos de raíz hacen presencia en las primeras tres semanas de desarrollo y son determinantes para el establecimiento pleno de la plántula, hacia una planta fértil y productiva.

2.4 Poliembrionía en Plantas (PE)

La poliembrionía es el fenómeno que genera dos o más embriones por semilla, los cuales pueden originarse de una o varias maneras. Además, esta condición puede expresarse como plántulas múltiples a la germinación. El proceso ocurre de manera natural en varias especies; los embriones en las semillas poliembriónicas pueden originarse del cigoto (huevo); de las sinérgidas (una de dos células, las cuales con el huevo forman el saco embrionario en angiospermas); de las antípodas (tres células en un saco embrionario

localizadas en el lado opuesto de la terminación micropilar); de la nucela (tejido diploide que rodea el saco embrionario); o del tegumento (una de las dos capas que rodean el óvulo maduro de una planta). Por lo tanto, los embriones resultantes en la ocurrencia de poliembrionía (PE) pueden ser haploide [que contengan la mitad (n) del número normal de cromosomas]; diploides [contengan la dotación normal de cromosomas ($2n$)]; o triploides (contengan tres juegos completos de cromosomas de la especie en cuestión) Villareal *et al.* (2007).

Se dice que la PE es simple cuando en un mismo saco embrionario se desarrollan varios embriones; PE múltiple, cuando los embriones se forman en varios sacos embrionarios. En las angiospermas puede ocurrir que el cigoto, luego de la primera mitosis se divida por cleavaje (linaje celular) en dos o más y así se forme un embrión de cada una de las partes. También puede suceder que la nucela se divida en varias partes, de las que se originan numerosos sacos embrionarios. A veces, sólo uno de ellos se desarrolla completamente Perissé (2002).

La poliembrionía es relativamente inusual entre las angiospermas, pero muy frecuente entre las gimnospermas Sedgley y Griffin (1989). De acuerdo con Lakshmanan y Ambegaokar (1984) la poliembrionía en angiospermas puede ser clasificada como “simple” o “múltiple”, dependiendo de la presencia de uno o más sacos embrionarios dentro del mismo óvulo, y por su naturaleza, la poliembrionía simple puede ser sexual o asexual (apomixis).

2.5 Poliembrionía en Maíz

Sharman (1942) observó una línea de maíz que tenía dos embriones que emergían de un solo grano, por lo cual los seleccionó y diseccionó. Los dos embriones aparentaban estar completamente separados excepto por el escutelo. Esto sugiere que la característica gemelar se presentó a edad temprana, y probablemente fue causada por una división longitudinal o una constricción de la masa celular que constituía la etapa “pro-embrión”. Los resultados anteriores sugirieron que ambos embriones eran idénticos y produjeron plantas típicas con el número normal de cromosomas, $2n=20$.

Estudios histológicos realizados por Erdelska (1996) permitieron distinguir los tipos principales de PE en maíz de acuerdo al origen de los embriones conectado con su localización en el grano, diferencias en estructura (tejido común compartido) y tipo de germinación; el autor los señala como sigue: a) Embriones gemelos provenientes de sacos múlti-embrión, los cuales se localizan generalmente en lados opuestos (lugares distantes) del grano, carecen de tejido común y la germinación es separada; b) gemelos o tripletes provenientes de células individuales del aparato huevo, donde las células están cercanamente adheridas, pero separadas estrictamente por capas de tejido epidérmico, el endospermo es común, plúmulas y radículas son independientes; c) poliembriones por división clonal (*cleavage*) se originan en vivo de manera

espontánea o por inducción, tienen un suspensor común, parte del escutelo y capas superficiales de la radícula; estas semillas germinan con un complejo radicular pero plúmulas separadas.

Otra causa de PE en maíz la señalan Hallauer y Miranda (1988) y se refiere a una mutación recesiva designada “gametofito indeterminado” (*ig*) que afecta al saco embrionario de los homocigotos; algunos de los efectos de este gen son: esterilidad masculina, 50% de casos en plantas *igig*; plantas abortivas o defectuosas, 25% de plantas *Igig*; poliembrionía en 6% de las semillas, endospermo normal, que recibieron el gen *ig* de madres *Igig* o *igig*; y monoploidía en el 3% de los casos de cruza con madres *igig*. De este modo, el gen “*ig*” también ocasiona la pérdida de las funciones normales en el desarrollo del gametofito femenino.

El Instituto Mexicano del Maíz “Dr. Mario E. Castro Gil” de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (IMM-UAAAN) generó una población de maíz, la cual cuenta con semillas “gemelas” que son producto de una selección artificial y no contienen ninguna manipulación genómica, ni producto de un proceso de mutación inducida, física o química. Inicialmente, el porcentaje de poliembrionía fue cuantificado en 1.5% y de ahí se inició un proceso de selección recurrente buscando incrementar gradualmente la frecuencia de la poliembrionía, y al mismo tiempo mantener una alta variabilidad genética, para asegurar el mejoramiento progresivo de la población. En 1979 se reportó que la población alcanzó 33% de PE y que la comparación entre plantas gemelas

germinadas de una semilla, para diversas características agronómicas, presentaron una varianza ambiental de solo 4.5%, por lo cual se determinó que las hermanas eran gemelas idénticas (Castro, 1979).

Espinoza *et al.* (1998) señalan que a partir de 1992, la población base de maíz con plantas gemelas del IMM-UAAAN, se dividió en dos grupos: 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, frecuencia PE, y tipo normal de plántula 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% a partir de 1996.

2.6 Variantes de Raíz de la Poliembrionía en Maíz

La poliembrionía en maíz provee a una semilla la capacidad de emitir más de una plántula; una mayor cantidad en el número de embriones en aquellas pudiera reflejar una disminución de tamaño en el endospermo y por tanto una reducción de reserva de nutrimentales en la semilla; esta necesidad de nutrimentos para abastecer más de una plántula en los casos PE, permite

suponer la utilidad de dos o más radículas para sustituir el déficit de nutrientes y mejorar el suministro de ellos por absorción radicular.

Los resultados experimentales en estudios a nivel plántula de 10 y 21 días de edad en las poblaciones poliembriónicas del IMM-UAAAN, denominadas como: NAP (Normal de Alta Poliembriónía) y BAP (Braquítica de Alta Poliembriónía), han permitido detectar características fenotípicas únicas en radícula a la germinación, las cuales no se aprecian en el maíz común, específicamente aquéllas presentan radículas múltiples (RM); el fenómeno de dos o más radículas por semilla ocurre generalmente en frecuencias de 14 a 20%. Es común que las RM observadas compartan estructuras seminales, tales como el mesocotilo, hipocotilo e inclusive las raíces laterales (Alcalá, 2006; Espinoza *et al.*, 2006).

2.7 Parámetros por vía de Diseños Dialélicos

Los sistemas de apareamiento genéticos denominados dialélicos se han aplicado con éxito por los fitomejoradores, tanto en la utilización de líneas como de poblaciones, con el propósito de estimar efectos de aptitud combinatoria general (ACG) y específica (ACE), efectos recíprocos (ER), componentes de varianza, niveles de heterosis y heredabilidad (Griffing, 1956; Gardner y Eberhart, 1966).

Sprague y Tatum (1942) propusieron el método que incluye a las cruzas dialélicas y que originó los conceptos de aptitud combinatoria; ACG es el término que emplearon para designar el comportamiento de promedio de una línea en combinaciones híbridas, a través de sus cruzamientos con un conjunto de líneas diferentes, y el de ACE lo emplearon para designar la desviación que presenta la progenie de una craza específica con el resto al promedio de sus progenitores.

Márquez (1998) define aptitud combinatoria como la capacidad que tiene un individuo o una población de combinarse con otros; esta capacidad es valorada por medidas en su progenie. La aptitud combinatoria debe determinarse en varios individuos de la población, con la finalidad de poder realizar selección de aquellos que exhiban mejor aptitud.

Griffing (1956) estableció cuatro métodos de diseños dialélicos para estimar ACG y ACE y componentes de varianza, los cuales son adecuados cuando el número de progenitores es reducido, a saber: I) evaluación de progenitores y cruzas F_1 directas y recíprocas; II) evaluación de progenitores y cruzas F_1 directas; III) evaluación cruzas F_1 directas y recíprocas; y IV) evaluación sólo de cruzas F_1 directas. Para efectos de esta investigación se utilizará el método I, el cual permitir determinar ACG, ACE y ER.

En su trabajo, acorde a la época, Griffing sólo dio un ejemplo numérico, correspondiente al método IV, debido principalmente a que éste representa el

sistema de mayor interés a los fitomejoradores, y a que los efectos genotípicos recíprocos eran, generalmente, considerados ausentes en plantas; aunque en la actualidad se conciba lo contrario. Acorde con esto, y en mucho debido al progreso de los procesos computacionales de alta velocidad, los investigadores pueden aplicar holgadamente una diversidad de métodos relativos a diseños de apareamiento, incluyendo el método I de Griffing, en busca de la mejor calificación de grupos genotípicos, jerarquizados por su AC y ER (maternos y no-maternos).

La condición genética por efecto de genes no localizados en el núcleo, llamado también influencia materna, implica que el fenotipo de un descendiente para cierto carácter está notablemente influenciado por el genotipo de la madre, donde la información genética de los gametos femeninos se transcribe y estos productos génicos (proteínas o ARNm aún no traducidos) están presentes en el citoplasma del óvulo. Después de la fecundación, estos productos influyen patrones o caracteres que se establecen durante el desarrollo temprano del nuevo individuo (progenie).

Corey *et al.*, (1976) mencionan que de los rasgos cuantitativos genéticamente examinados en diversos cultivos, sólo se ha hecho énfasis en ACG y ACE, ignorando los efectos recíprocos y maternos. Los autores encontraron efectos maternos en estudios con *Arabidopsis thailiana* L., los cuales, se cree, son debidos a la diferencia de citoplasma materno y al ambiente maternal provisto por desarrollo de la semilla.

Los cruzamientos dialélicos pueden ser usados en estudios genéticos para indagar la herencia de rasgos ó características de importancia entre genotipos. Específicamente, las cruza dialélicas fueron desarrollados para estimar la ACG de los padres, e identificar al padre superior para ser usados en la formación de híbridos o sintéticos. El análisis de los datos en el dialélico es usualmente realizado acorde a los métodos de Griffing, que desagregan la variación total observada en efectos de ACG y ACE (Yan y Hunt, 2002).

Frecuentemente se emplean cruzamientos dialélicos para estudio de las poblaciones biológicas. Los métodos, así como los problemas considerados han sido diversos. Algunos investigadores (Sprage y Tatum, 1942; Griffing, 1956; Henderson, 1963) han utilizado estos cruzamientos para definir y aplicar los conceptos de ACG y ACE para obtener procedimientos que permiten estudiar a progenitores en particular.

La presencia de efectos recíprocos en la expresión de los fenotipos está bajo influencia del material genético involucrado en el estudio, y afecta de manera diferente a los caracteres en observación. Por lo tanto, antes de iniciar un programa de mejoramiento genético debe conocerse la magnitud de los efectos recíprocos y, en base a los resultados, tomar las decisiones que mejor le convengan al fitomejorador (Sámano, 2007).

Relativamente, pocos estudios de análisis dialélico han sido aplicados en el desarrollo inicial en plantas de maíz. En un programa de producción, es

importante determinar el vigor de plántula, el cual puede contribuir a predecir el establecimiento y producción de híbridos sobresalientes. En este sentido se ha encontrado que el vigor de plántula está determinado por efectos de ACG, aunque los efectos de ACE y ER también han sido identificados como importantes.

2.8 Heterosis

La heterosis ó vigor híbrido se refiere al fenómeno donde la progenie de diversas variedades endogámicas y poblaciones exhiben mayor biomasa, velocidad de desarrollo y fertilidad que la de sus dos padres. Este fenómeno ha sido explotado extensamente en la producción de cultivos y ha sido una poderosa fuerza en la evolución de las plantas (Birchler, 2003; Melani y Carena, 2005).

Hallauer y Miranda (1988) mencionan que para obtener mejor respuesta heterótica sería conveniente combinar germoplasma proveniente de diferentes áreas de adaptación, bajo el supuesto de que a mayor divergencia genética habrá mayor heterosis. Similarmente, Rivera (1977) considera que un mayor número de genes en un locus (diversidad genética) resulta en una mayor probabilidad de que el genotipo sea heterótico.

Puertas (1992) señala que el cruzamiento de algunas líneas endogámicas produce híbridos de caracteres muy superiores, no sólo sobre las

líneas paternas, si no también a las poblaciones iniciales de donde se obtuvieron las líneas endogámicas.

Varios modelos han sido propuestos para explicar la base genética de la heterosis, los cuales incluyen las hipótesis de Dominancia, Sobredominancia y Epistasis. Todas ellas se refieren a la combinación de un considerable número de genes responsables del vigor de los fenotipos híbridos sobre los progenitores endogámicos (Birchler, 2003).

El modelo de complementación (dominancia) en estado recesivo se presenta por la presencia de alelos deletéreos en los padres endogámicos que son complementados en la progenie. Acorde a este modelo, los efectos aditivos de alelos benéficos resultan en un superior fenotipo en el híbrido. Este modelo fue presentado en 1910, y para que la heterosis ocurra, los progenitores deben diferir en frecuencia génica y la dominancia debe estar presente (Bruce, 1910).

Otro de los modelos, la Sobredominancia, propone que la condición heterocigótica *per se* de los progenitores es la responsable de la heterosis. De acuerdo a este modelo, las nuevas interacciones entre diferentes alelos de los progenitores resultan en fenotipos superiores para ambos alelos homocigotes.

Características medibles, tales como número de hileras de semilla en la mazorca investigado por Shull (1908), son consideradas como características cuantitativas y pueden ser estudiadas vía mapeo de QTL. Con esta aproximación, las regiones del genoma regulan una característica medible que

identifican a poblaciones segregantes. Los caracteres sujetos a heterosis, incluyendo el rendimiento de grano, altura de planta, biomasa, y tamaño de mazorca, han sido investigados usando mapeo de QTL (Stuber *et al.*, 1992; Frascaroli *et al.*, 2007). Históricamente, la heterosis ha sido estudiada usando la genética cuantitativa, como evidencia se ha propuesto que la heterosis es de naturaleza poligénica (Kusterer *et al.*, 2007).

2.9 Vigor Inicial y su Relación con Características de Planta Adulta

El desarrollo de variedades de maíz (*Zea mays* L.) de alto rendimiento es un proceso largo y costoso, aunque se puede reducir usando métodos que consideren el comportamiento de los genotipos durante el desarrollo inicial (Ajala y Fakorede, 1988).

El vigor inicial es considerado una componente esencial del desarrollo de los cultivos en la mayoría de las condiciones ambientales (Ludlow y Muchow, 1990). Bajo condiciones favorables, es posible obtener plántulas vigorosas de híbridos de maíz que resultan en un alto rendimiento al combinar genotipos y prácticas agronómicas (Fakorede y Agbana, 1983). En este contexto, características simples como el porcentaje de germinación, longitud de la parte aérea y la longitud de radícula han sido aceptadas como indicadores de vigor de plántula (Acevedo *et al.*, 1971; Hoecker y Hochholdinger, 2006).

Además, se ha observado que la varianza de dominancia determina caracteres de calidad fisiológica de semilla, mientras que la varianza aditiva influye a caracteres de tipo agronómico, aunque no se ha encontrado asociación entre variables de calidad de semilla y variables agronómicas, tampoco se ha observado que la calidad inicial de la semilla no influye en el desarrollo del cultivo (Antuna *et al.*, 2003).

Otros investigadores han estudiado la emergencia y vigor de plántulas donde incluyen aspectos agronómicos y hasta genéticos. En maíz, se ha reportado que los efectos aditivos son más importantes que los efectos dominantes para la germinación, el vigor de semilla y de plántula; de igual manera se han reportado efectos recíprocos significativos (Revilla *et al.*, 1999; Antuna *et al.*, 2003).

En este contexto, existen estudios que indican que las correlaciones entre los caracteres de plántula y planta adulta son inconsistentes. Mock y Bakri (1976) reportaron baja correlación entre el vigor de la plántula, medido éste como porcentaje de emergencia, el índice de emergencia y materia seca de plántula a 42 días después de la siembra, con el rendimiento en grano en la población de maíz SSS 13. Mock y Skrdla (1978) obtuvieron resultados similares en cuanto a la baja asociación entre vigor de plántula y los días a floración femenina.

Mock y McNeill (1979) encontraron bajos coeficientes de correlación entre caracteres de vigor de plántula con altura y número de hojas de planta juvenil, días a floración femenina, altura de planta adulta y rendimiento de grano en 34 líneas endogámicas de maíz; pero la acumulación de materia seca inicial afectó de manera positiva y significativamente ($R^2=0.48$) el rendimiento de grano.

Aplicando selección recurrente en maíz, la correlación entre el vigor de plántula y rendimiento de grano puede ser positiva, negativa o cero (Fakorede y Ayoola, 1980); aunque en algunos casos, la asociación entre el tamaño de grano y crecimiento inicial de plántula es positiva (Bockstaller y Girardin, 1994). En otros casos, aunque es significativo el efecto del tamaño de grano y el crecimiento de plántula durante el período heterotrófico (porcentaje de emergencia, altura de plántula, materia seca), éste desaparece antes de la anthesis (Hawkins y Cooper, 1979).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Generalidades de los Experimentos

El presente trabajo de tesis trata sobre la respuesta de nueve genotipos en tres etapas de desarrollo, tales como: 1) Anatomía de radícula, tres días de edad; 2) Desarrollo de plántulas de tres semanas de edad; y 3) Comportamiento productivo de plantas adultas. El estudio incluyó tres baterías experimentales como sigue: **Experimento 1.** Caracterización de radículas a nivel histológico; **Experimento 2.** Evaluación del sistema radical seminal y producción de materia seca raíz/tallo en plántulas de 21 días; y, **Experimento 3.** Ensayo de comportamiento productivo de los genotipos, observado en dos localidades geográficas.

El experimento Uno se llevó a cabo en el laboratorio de Histología Vegetal perteneciente al Departamento de Botánica; el Dos se efectuó en el invernadero número tres asignado para investigaciones en Maíz; estas dos unidades experimentales son instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) con sede en Saltillo, Coah. Finalmente, el experimento Tres fue establecido en dos localidades; Buenavista, Saltillo, Coah. (25° 21' Latitud N; 101° 02' Longitud O; altitud 1758 msnm) y Calvillo, Aguascalientes (21° 43' latitud N; 102° 32' longitud O; altitud 1640 msnm).

3.2 Material genético

El material genético utilizado incluyó tres poblaciones de maíz, de las cuales dos poseen la característica heredable de semillas poliembriónicas (PE), generadas en el Instituto Mexicano del Maíz “Dr. Mario E. Castro Gil” (IMM) de la UAAAN; la tercera es la población Tuxpeño HOC, muestra otorgada por CIMMYT. Estas poblaciones, que de aquí en adelante serán denominadas como C, D y E, descritas como sigue.

Población C = UA-IMM-NAP, Normal de Alta poliembriónía: población de plantas porte normal (altas), con características poliembriónicas (frecuencia de 60 a 65%); origen: UAAAN, 2006, vía selección recurrente de medio hermanos.

Población D = UA-IMM-BAP, Braquílica de Alta Poliembriónía: población de plantas enanas, con características poliembriónicas (frecuencia de 60 a 65%), posee una respuesta excelente en combinaciones híbridas con grupos No-PE; origen: UAAAN, 2006, vía selección recurrente de medio hermanos.

Población E = Tuxpeño HOC: población tropical proveniente del CIMMYT, su mayor cualidad es el contenido alto de aceite en semilla (entre 8 y 9%).

Estas poblaciones se cruzaron en toda combinación posible, siguiendo el Método I (modelo I, fijo) de Griffing (1956); de ello, se obtuvieron los nueve genotipos utilizados en todas las facetas experimentales, e incluyen a las tres poblaciones paternas, tres cruzas directas (Cx_D; Cx_E; y Dx_E) y las tres recíprocas (Dx_C; Ex_C; y Ex_D).

3.3 Experimento 1. Análisis Histológico de Radícula de Tres Días

El interés principal en esta etapa fue el de estudiar anatómicamente el fenómeno de la formación de dos o más radículas por semilla germinada, manifiesta exclusivamente en las poblaciones PE.

Procedimiento Experimental

Muestras aleatorias de 24 semillas por genotipo, por repetición, se hicieron germinar en rollos papel germinador; para esto se utilizó una cámara germinadora, a temperatura de 28 ± 2 °C, con iluminación artificial por 8 horas, los tres días.

Una vez lograda la germinación, se colectaron secciones de radícula de 5 cm de longitud, las cuales se obtuvieron a partir de 2 cm de la base de la semilla en dirección al ápice radicular; estas secciones fueron a su vez cortadas a la mitad para facilitar el manejo técnico posterior. El procedimiento se practicó en tres especímenes en cada uno de los nueve genotipos.

Las secciones de radícula fueron colocadas en fijador FAA (40% de alcohol etílico al 50% y ácido acético glacial al 5%) por 45 días. Los tejidos ya fijados se sometieron a proceso de deshidratación y luego a la inclusión en parafina, siguiendo la metodología propuesta por Johansen (1940). El siguiente paso fue realizar los cortes de radícula con el micrótopo rotatorio American Optical 820, los cuales fueron montados en portaobjetos. El grosor de los cortes fue de 16 μm .

Los tejidos fueron teñidos siguiendo la técnica de doble coloración con Safranina O y Fast Green (Johansen, 1940). Una vez coloreados, las preparaciones fueron selladas colocando una gota de Bálsamo del Canadá entre el porta y cubreobjetos, logrando así preparaciones histológicas permanentes.

El estudio de los arreglos anatómicos de estos tejidos se logró mediante el uso de un microscopio compuesto, Carl Zeiss, y documentados con una cámara Cannon de 5 megapíxeles y la acción del paquete computacional Remotte Capture. Para el análisis detallado de las imágenes se utilizó el software Axio Vision 4.7 de Carl Zeiss.

Variables de respuesta

Longitud de radícula (LR). Medición de la radícula (o radículas múltiples observadas en casos de PE) tomada en centímetros desde la base de la semilla hasta la punta de la raíz. Para casos de radículas múltiples, se utilizó el promedio de las mediciones obtenidas en 2, 3 ó 4 radículas.

Número de primordios de raíces laterales (NPR). Bajo observación microscópica la ubicación y cuantificación del número de primordios de raíz presentes en cada sección de la radícula.

Número de Capas del córtex (NCC). Número de capas de células del córtex de radícula en corte longitudinal, bajo observación microscópica.

Longitud de células corticales (LCC). Medida tomada en micrómetros (μm) de un grupo de 15 células; la medida se llevó a cabo en microfotografías tomadas en cada sección de la radícula.

Diámetro de radícula (DR). Medida en milímetros del corte transversal de la radícula, tomada a 2 cm del cuello de la plántula; en microfotografía.

Número de metaxilemas (NMX) y Número de floemas (NFL). Número de estructuras presentes en el cilindro vascular de estas dos clases de tejido en la radícula.

Número de Plántulas por Semilla Germinada y Frecuencia PE (FPE)- Variable tomada a los diez días, cuantificando el total de semillas germinadas y su condición de plántulas, sea individual o múltiple (dos o más plúmulas por semilla), y calculando la proporción de éstas; es conveniente mencionar que para esta variable participaron todas las semillas germinadas, incluyendo las utilizadas en cortes de radícula a los tres días, ya que las plántulas de éstas sobrevivieron a la manipulación de la radícula por la acción de raíces laterales seminales emergidas en los dos centímetros de radícula remanente al corte.

Número de radículas múltiples y su proporción (FRM). Característica asociada a la manifestación de la PE, y consiste en la identificación de casos de radículas múltiples (de dos a cuatro) por semilla germinada, y expresarla en porcentaje.

Análisis Estadístico y Diseño Experimental

El experimento fue establecido bajo un diseño completamente al azar, tres repeticiones. Un espécimen por genotipo, por repetición, representó la unidad experimental. El modelo estadístico fue $Y_{ij} = \mu + t_i + \varepsilon_{ij}$; donde: Y_{ij} representa la ij-ésima observación de cualquier variable; μ es la media general del experimento; t_i representa el i-ésimo genotipo y ε_{ij} representa el ij-ésimo error experimental. Diferencias entre genotipos fue discernido por la prueba Tukey, $\alpha = 0.05$.

3.4 Experimento 2. Desarrollo de Plántulas en Invernadero

La finalidad del estudio fue caracterizar plántulas de 21 días de edad relativo a medidas de longitud y peso, así como la acumulación de materia seca en el sistema radical y parte aérea; el material de estudio fueron los nueve genotipos generados por el diseño dialélico de apareamiento, ya descritos en la sección anterior.

Procedimiento Experimental

Se sembraron 30 semillas por genotipo, por repetición, en recipientes de cartón de 1 L (tipo lecheros), a los cuales fueron agregados 700 g de suelo ligero (60% de tierra de bosque: 40% de Peat Moss). La semilla por maceta se depositó a 2-3 cm de la superficie; los riegos fueron aplicados al momento de la siembra y cada tercer día durante los 21 días de duración en invernadero.

Variables de Respuesta

Porcentaje de germinación (PG). Proporción de casos donde la semilla germinó en plántula(s) normal(s), simple ó múltiple, e incluso aquellos que presentaron alguna anormalidad.

Número de plántulas por semilla germinada y frecuencia de poliembrionía (FPE). Proporción de casos de plántulas múltiples por semilla relativos al total de germinación; la clasificación de la poliembrionía se detalló en dos categorías: 1) casos de dos plántulas; y 2) casos de tres o más plántulas, por semilla.

Una vez tomados los datos de las variables anteriores, las plántulas fueron extraídas cuidadosamente de las macetas, eliminado el sustrato suelo, para tomar una serie de mediciones, como las siguientes.

Número de hojas (NH). Número total de hojas completas presentes por plántula; esto de acuerdo a las especificaciones de Ritchie *et al.* (1992) para la definición de hoja.

Número de radículas (NR). Número de radículas presentes por semilla germinada en caso de plántulas PE; este dato permitió calcular la frecuencia de radículas múltiples por semilla (**FRM**).

Longitud total (LTT). Longitud en centímetros obtenida desde el cogollo (punto de crecimiento visible del extremo superior de crecimiento aéreo de la plántula hasta la punta de la raíz.

Longitud de radícula (LR). Longitud de radícula o radículas, en casos de genotipos PE, tomada en centímetros, desde la base de la semilla hasta la

punta de la(s) radícula(s). Para el caso de radículas múltiples, el dato se registró como el promedio las mediciones aplicadas al caso.

Número de raíces nodulares. Número de raíces emergidas del nudo ó corona, por arriba del mesocotilo.

Longitud de parte aérea (LPA). Medición en centímetros desde la base del tallo hasta el cogollo o punto de crecimiento; en genotipos con PE se obtuvo el promedio de las medidas del número tallos involucrados.

Peso fresco completo (PFC), peso fresco de parte aérea (PFPA) y peso fresco de raíz (PFR). Medidas tomadas al momento de extraer la plántula de la maceta; el peso en gramos se utilizó una báscula con precisión de tres milésimas.

Peso seco de raíz (PSR) y de la parte aérea (PSPA). Una vez obtenidas las medidas de peso y longitud de las plántulas en fresco, éstas fueron fraccionadas, separando las partes raíz y tallo, y colocadas en entre láminas de papel humedecido por tres días, para luego iniciar el proceso de deshidratación. Las partes de raíz y tallo fueron colocadas en sobres de papel en forma separada y colocadas en un horno a $58 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 72 horas; el peso fue tomado con una báscula con precisión de cuatro milésimas de gramo. De los resultados se derivaron tres variables compuestas que relacionan el peso fresco y seco de las partes raíz-tallo como sigue: peso seco de raíz/peso fresco de raíz (PSR/PFR); peso seco de tallo/peso fresco de tallo (PST/PFT) y peso seco de raíz/peso seco de tallo (PSR/PST).

Análisis Estadístico y Diseño Experimental

El experimento fue realizado bajo un diseño de bloques completos al azar, tres repeticiones. La parcela experimental consistió de 30 semillas por genotipo, por repetición, para las variables germinación y poliembrionía. Para la valoración de otras variables, se realizó un submuestreo, quedando la unidad experimental en 14 plántulas por genotipo, por repetición.

El modelo estadístico fue: $Y_{ijk} = \mu + r_i + t_j + \varepsilon_{ijk}$ donde Y_{ijk} representa la ij - ésima observación de cualquier variable; μ es la media general del experimento; r_i es el i - ésimo bloque; t_j es el i -ésimo genotipo; y ε_{ijk} representa el ijk - ésimo error experimental.

3.5 Experimento 3. Ensayo de Comportamiento Productivo

Los nueve genotipos resultantes de un dialélico completo a partir de 3 poblaciones de maíz, dos de interés PE y el otro de alto contenido de aceite en grano, fueron evaluados en dos localidades, con el propósito de calificar su comportamiento productivo; y de este modo, identificar alguna conexión de ellos con las etapas juveniles, estudiadas en laboratorio (radícula de 3 días de edad) e invernadero (21 días de edad).

Procedimiento Experimental

Siembra. Esta actividad se realizó de manera manual depositando una semilla por golpe. Las fechas de siembra por ambiente de evaluación fueron:

Buenavista, Saltillo, Coahuila: 22 de mayo, 2008; y Calvillo, Aguascalientes: 06 de junio, 2008.

Labores culturales

Fertilización. La fertilización correspondió a una formulación de 180-90-00 kg ha⁻¹ en las dos localidades, aplicando la mitad del nitrógeno y todo el fósforo al momento de la siembra, el resto del nitrógeno fue aplicado al momento de cultivar.

Riegos: En Buenavista se aplicaron cinco riegos y tres en Calvillo; en esta localidad, la precipitación pluvial fue continua durante los meses de agosto y septiembre, 2008 por lo que no fue necesario aplicar más riegos.

Control de malezas. En los dos ambientes se aplicó herbicida pre-emergente Primagram Gold[®] (cuyo ingrediente activo es S-Metalaclor + Atrazina) a razón de 4 L ha⁻¹ aplicado después de la siembra; el control mecánico de malezas fue a los 40 días, al momento del cultivo.

Cosecha. Se realizó por parcela útil, de forma manual registrando el peso de campo e inmediatamente después se determinó el contenido de humedad del grano.

Variables agronómicas de respuesta

Días a floración masculina y femenina (FM y FF). Número de días transcurridos desde la siembra hasta la fecha cuando el cincuenta por ciento de

las plantas presentaron anteras dehiscentes (floración masculina) y estigmas receptivos (floración femenina).

Altura de planta (AP). Distancia en centímetros entre la base de la planta y hasta la hoja bandera. Después del estado lechoso del grano.

Altura de mazorca (AM). Distancia en centímetros desde la base de la planta hasta el nudo de inserción de la mazorca principal.

Relación alturas mazorca-planta (RMP). Relación que existe entre la altura de la inserción de la mazorca y la altura de la planta, expresado en por ciento.

Acame de raíz (AR). Porcentaje de plantas acamadas por parcela, considerando como tal los casos que presentaban una inclinación mayor de 30° con respecto a la vertical.

Acame de tallo (AT). Porcentaje de plantas por parcela que presentaron el tallo quebrado por debajo de la mazorca principal.

Mala cobertura (MC). Por ciento de mazorcas no cubiertas totalmente por las brácteas (totomoxtle) en relación con el total de las mazorcas cosechadas en cada parcela.

Prolificidad (PROL). Proporción de mazorcas con respecto al número de plantas presentes en el momento de la cosecha, expresado en porcentaje.

Peso de campo (PC). Peso expresado en kilogramos del total de las mazorcas cosechadas por parcela útil.

Por ciento de humedad (%H). Determinación del contenido de humedad del grano en una muestra de 100-150 g, tomadas de manera aleatoria de varias mazorcas de un genotipo, desgranando de 3 a 5 hileras en c/u. La medida se obtiene al disponer la muestra en un aparato *Dickie John*, momentos después de la cosecha.

Rendimiento de mazorca al 15.5% de humedad (REND). Valor que se obtiene de multiplicar el peso seco (PS) por un factor de conversión (FC), las cuales se definen como sigue:

$$PS = \frac{100 - \%H}{100} * PC \text{ Donde:}$$

% H = Porcentaje de humedad del grano a la cosecha por parcela y

PC = Peso de campo en kg.

$$FC = \frac{10000}{APU \times 0.845 \times 1000}$$

APU= Área de parcela útil. Es el producto de la distancia entre surcos por la distancia entre matas por el número exacto de plantas por parcela; **0.845**= Constante para transformar el rendimiento de peso seco al 15.5 % de humedad; **1,000**= Constante para obtener el rendimiento en ton ha⁻¹; y **10,000**= Valor correspondiente a la superficie de una hectárea en m².

Rendimiento ajustado por covarianza

Debido a que el número de plantas cosechadas fue variable entre las parcelas en los dos ensayos, se realizó en cada caso un análisis de covarianza, con el fin de estimar el efecto de esta variable en la expresión final del rendimiento. En caso de significancia estadística, la variable de interés (rendimiento) debe ajustarse mediante la fórmula:

$$\hat{Y}_{ij} = Y_{ij} - \beta_i (x_i - \mu)$$

Donde \hat{Y}_{ij} = rendimiento ajustado por covarianza; Y_{ij} = rendimiento sin ajuste del i-ésimo tratamiento; β_i = coeficiente de regresión estimado; x_i = número de plantas cosechadas en el i-ésimo tratamiento; y μ = promedio de número de plantas por experimento.

Diseño Experimental

El establecimiento de los nueve genotipos en los ensayos se realizó bajo un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones por localidad. La parcela útil para Buenavista fue de un surco de 5 m y un espaciamiento entre surcos de 0.85 m, con 23 plantas a 0.25 m entre ellas; mientras que para Calvillo fue un surco de 5 m y un espaciamiento entre surco de 0.75 m, con 26 plantas a 19 cm entre plantas.

3.6 Diseños Dialélicos de Griffing

El sistema de apareamiento practicado a las tres poblaciones progenitoras corresponde al modelo 1, método 1 de los diseños de Griffing

(1956). El modelo genético, que fue el mismo para los tres experimentos, es como sigue:

$$Y_{ijklm} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + r_{ij} + \varepsilon_{ijklm}$$

Donde: Y_{ijklm} = Variable de respuesta; μ = Efecto de la media general; g_i = Efecto de la aptitud combinatoria general del i -ésimo padre; g_j = Efecto de la aptitud combinatoria general del j -ésimo padre; s_{ij} = Efecto de la aptitud combinatoria específica de los padres ij ; r_m = Efecto recíproco; y ε_{ijklm} = Error experimental.

En caso de que proceda un análisis combinado (a través de localidades) el modelo es como se describe abajo

$$Y_{ijklm} = \mu + l_i + \beta_{j(i)} + g_k + g_l + s_{kl} + r_m + lg_{ik} + lg_{il} + ls_{ikl} + lr_{mi} + \varepsilon_{ijklm}$$

Descripción de términos en el modelo similar al modelo anterior pero agregando en éste los términos que concita el efecto de localidades e interacciones.

Donde: Y_{ijklm} = Variable de respuesta; μ = Efecto de la media general; l_i = efecto de la i -ésima localidad; $\beta_{j(i)}$ = Efecto del j -ésimo bloque dentro de la i -ésima localidad; g_k = Efecto de la aptitud combinatoria general del padre k ; g_l = Efecto de la aptitud combinatoria general del padre l ; s_{kl} = Efecto de la aptitud combinatoria específica de los padres kl ; r_m = Efecto recíproco; lg_{ik} = Efecto de la interacción entre la i -ésima localidad y la aptitud combinatoria general del padre k ; lg_{il} = Efecto de la interacción entre la i -ésima localidad y la aptitud combinatoria general del padre l ; ls_{ikl} = Efecto de la interacción entre la i -ésima localidad y la aptitud combinatoria específica de los padres kl ; lr_{mi} = Efecto de la

interacción entre la i-ésima localidad y el efecto recíproco y; ε_{ijklm} = Error experimental.

Las restricciones generales para los efectos genéticos son:

$$\sum_i g_i = 0 \quad \text{y} \quad \sum_i s_{ij} = 0 \quad (\text{para cada } j)$$

La estimación de los efectos genéticos fue de la siguiente manera:

$$\hat{\mu} = \frac{1}{p^2} X_{..}$$

$$\hat{g}_i = \frac{1}{2p^2} (X_{.i} + X_{.j}) - \frac{1}{p^2} X_{..}$$

$$\hat{s}_{ij} = \frac{1}{2} (X_{ij} + X_{ji}) - \frac{1}{2p} (X_{.i} + X_{.i} + X_{.j} + X_{.j}) + \frac{1}{p^2} X_{..}$$

$$\hat{r}_{ij} = \frac{1}{2} (X_{ij} - X_{ji})$$

Los efectos recíprocos fueron subdivididos en efectos maternos y no maternos, siguiendo la estrategia de Cockerham y Weir (1977) explicada por Martínez (1983) con la finalidad de medir la contribución de estos efectos en la expresión final de las cruzas.

Las varianzas correspondientes a los parámetros se estimaron de la siguiente manera:

$$\text{var}(\hat{\mu}) = \frac{1}{p^2} \sigma^2 \quad \text{var}(\hat{g}_i) = \frac{p-1}{2p^2} \sigma^2 \quad \text{var}(\hat{s}_{ij}) = \frac{1}{2p^2} (p^2 - 2p + 2) \sigma^2$$

$$\text{var}(\hat{r}_{ij}) = \frac{1}{2} \sigma^2$$

$$\sigma^2 = CME / lr$$

Donde: CME = es el cuadrado medio del error experimental; l = localidades y r = boques.

Los datos relativos a efectos genéticos, propios del método I de Griffing fueron analizados con el software computacional Diallel Analysis Version 1.1, propuesto por Mark Burow y James G. Coors (1994).

3.7 Análisis para Efectos de Heterosis

El análisis para heterosis fue calculado por el método de Padre Promedio (Mid Parent Heterosis, MPH) descrito por Lamkey y Edwards (1998):

$$MPH = F_1 - \frac{P_1 + P_2}{2}$$

MPH es a veces tomado como porcentaje. Este valor fue adquirido para representar el valor heterótico y se calcula como sigue:

$$MPH = \frac{MPH}{PM} * 100 \quad PM = \frac{P_1 + P_2}{2}$$

Donde: MPH= Heterosis respecto al progenitor medio; F_1 = Valor numérico de la característica medida del híbrido; PM= Progenitor medio; P_1 y P_2 = Valores numéricos de los progenitores.

Es conveniente señalar que el tema de los parámetros genéticos derivados en los tres experimentos será comentado de manera conjunta al final del capítulo de Resultados y Discusión.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La presente investigación trata de tres procesos experimentales observados en diferente etapa de desarrollo del maíz; el primero corresponde a un estudio histológico en radícula de tres días de edad; el segundo aborda características de plántula a los 21 días de edad bajo condiciones de invernadero; y el tercero trata el comportamiento productivo en campo de plantas adultas de los nueve genotipos bajo estudio.

Los nueve genotipos utilizados se describen como sigue: tres poblaciones de maíz con características especiales, *i.e.* dos de ellas poseen alta frecuencia de poliembrionía (PE) y la tercera, que no es PE, presenta alto contenido de aceite en la semilla; y las cruzas directas y recíprocas entre estas poblaciones, acorde al método 1 propuesto por Griffing (1956).

Los resultados y discusión se presentaran por experimento; en cada caso, se hará una breve mención de los procedimientos y el manejo estadístico aplicado. Los parámetros genéticos derivados de estos tres experimentos serán abordados en una sección especial al final de este capítulo.

4.1 Experimento 1. Análisis Histológico de Radícula de Tres Días de Edad

Esta sección se refiere a la caracterización anatómica de radícula a los tres días de edad, así como la observación cuidadosa sobre la cualidad exclusiva de las poblaciones poliembriónicas de emitir radículas múltiples por semilla al germinar.

Esta etapa corresponde a la de emergencia (VE, de acuerdo con Ritchie *et. al.*, 1992). En ella, la radícula es la primera parte anatómica en aparecer, seguida del coleoptilo, que incluye la plúmula y tres a cuatro raíces laterales seminales que emergen del nudo escutelar (Feldman, 1994).

El experimento permitió observar la aparición de radículas en todos los genotipos bajo estudio; también se pudo cuantificar la presencia de radículas, tanto múltiples como individuales (tipo normal) por semilla en los grupos poliembriónicos (PE).

Las primeras tres características fenotípicas se presentan en el Cuadro 4.1. Los nueve genotipos se integran en cuatro grupos a saber: Los PE son los genotipos C y D; Los PE x PE son las cruzas directas y recíprocas entre C y D; El No-PE es Tuxpeño o E; y Los PE x No-PE son las cruzas directas y recíprocas entre C y D con E.

Cuadro 4.1. Valores promedio y desviación estándar de las tres primeras variables fenotípicas de los genotipos PE y No-PE.

Genotipos	PG (%)	FPE (%)	FRM (%)
PE	99±2	64±10	16±3
PE x PE	97±3	63±6	12±6
No-PE	97±5	0	0
PE x No-PE	99±2	0	0

PE= C y D; PExPE= cruzas directas y recíprocas entre C y D; No-PE= Tuxpeño; PExNo-PE= cruzas directas y recíprocas entre C, D y E; PG= porcentaje de germinación; FPE= frecuencia Poliembriónica y FRM= frecuencia de radículas múltiples.

La germinación de los genotipos PE como en los No-PE fue alta, en promedio general de 98%. Estos resultados coinciden con los obtenidos por

Alcalá (2006), quien reporta porcentaje promedio de 98% de germinación en las poblaciones NAP, BAP y dos genotipos comerciales No-PE.

La poliembrionía es un carácter exclusivo de las poblaciones C y D, y de las combinaciones híbridas entre ellas. Esta característica fue cuantificada a los 10 días de edad, dado que la manifestación indiscutible de las primeras dos hojas de cada plántula requiere de más de ocho días post-germinación. En este estudio, la PE presentó frecuencias altas, por arriba de 60%; y las cuales están dentro de las que señalan para muestras de estas poblaciones Espinoza *et al.* (1998) y Espinoza *et al.*, (2005); en este último reporte, las poblaciones C y D alcanzaron el máximo histórico de PE (70%).

Entre los resultados, se corroboró también que la PE se pierde por completo en cruzamientos que generan a F_1 con otros genotipos normales (No-PE) como Tuxpeño, manifestándose de este modo como un carácter recesivo. Al respecto, la PE ha sido interpretada por diversos autores como un fenómeno gobernado por genes de efectos menores (monogénico), o como un carácter cuantitativo (poligénico); el primer tipo de herencia lo señalan Hallauer y Miranda (1981) y Pilu (2000); o como Rodríguez y Castro (1978); Castro (1979); y Espinoza *et al.*, (1998) en el segundo grupo. Sin embargo, debido al comportamiento inconsistente en la fijación de la PE, actualmente Espinoza *et al.* (2008) en una revisión de la herencia del carácter, proponen que el carácter corresponde a un fenómeno genético de interacción génica tipo epistasis doble recesiva, con penetrancia incompleta y expresividad variable.

La variable “frecuencia de radículas múltiples (FRM)” es un fenómeno extraordinario en maíz, y parece asociado al origen o tipo de la PE, la cual presenta variantes en el número de radículas por semilla germinada (Espinoza *et al.*, 2006); de ser así, la FRM se presenta sólo en una proporción menor de casos PE en función de las estructuras y número de plántulas múltiples por semilla.

En esta investigación, la FRM fue de 14% en las poblaciones PE y sus combinaciones, a pesar de que se documentó una proporción de PE superior a 60%. Esta frecuencia se mantiene dentro de las que señalan Alcalá (2006) y Espinoza *et al.* (2006) quienes la reportan en proporciones de 14 y 16% respectivamente. La positiva condición de radículas múltiples merece más investigación de la que aquí se informa.

Las variables relativas a la morfología y anatomía de radícula se consignan en el Cuadro 4.2, en el cual se puede apreciar el comportamiento promedio de los genotipos en relación a las variables de interés. Las variables longitud de radícula (LR) y diámetro de radícula (DR) se tomarán como referencia para analizar las tendencias de desarrollo de las características longitudinales (número de primordios radiculares, NPR y longitud de células corticales, LCC) y de las transversales (número de capas corticales, NCC y número de metaxilemas, NMX) respectivamente. Es oportuno señalar que las variables que mostraron diferencias significativas, serán abordadas una vez comentadas las características generales.

Cuadro 4.2. Valores promedio y coeficiente de correlación de variables medidas en cortes histológicos en radículas de tres días.

Genotipos	LR (cm)	NPR	LCC (μm)	DR (mm)	NCC	NMX
C	7.7	7.3	193.0	1.16	9.7	6.0
CxD	9.6	6.8	158.9	1.35	9.0	9.3
CxE	9.0	14.3	181.2	1.04	10.3	6.3
DxC	7.5	5.3	185.6	0.98	6.7	5.6
D	8.1	6.3	192.6	1.39	9.7	6.0
DxE	9.2	13.0	220.4	1.11	11.0	6.0
ExC	8.9	6.7	212.5	1.22	8.7	6.3
ExD	9.6	8.3	231.8	1.19	8.3	6.3
E	8.4	15.7	212.2	1.00	9.7	5.3
r		0.26	0.16	0.24	0.04	0.62*
Media	8.7	9.3	198.7	1.2	9.2	6.3
Desv Est	0.7	4.4	23.2	0.3	1.3	0.8

* = significativo al 0.05 de probabilidad; LR= longitud de radícula; NPR= número de primordios radiculares; LCC= longitud de células corticales; DR= diámetro de radícula; NCC= número de capas corticales; NMX= número de metaxilemas y r=coeficiente de correlación.

La radícula en maíz se hace visible como una estructura morfológica a los dos días después de la germinación y se desarrolla durante etapas tempranas subsecuentes (Hoecker y Hochholdinger, 2006; Hochholdinger, 2009), condición coincidente con los resultados en este estudio, donde el desarrollo de la radícula alcanzó una longitud cercana a 9 cm; aquí, ésta característica se ve favorecida por las combinaciones híbridas entre los genotipos PE con E, quienes presentan un promedio de 9.2 cm, mientras que los genotipos PE tuvieron un promedio menor (8.2 cm) que la media general, y por debajo del comportamiento de E; sin embargo, debe notarse que en los casos PE de radículas múltiples (de 2 a 4 por semilla, presente en 14% de los casos) se consigna el promedio de la longitud de las radículas y no su suma longitudinal. Por otra parte, cabe señalar que LR puede ser un indicativo

importante para las variables longitudinales NPR y LCC. En este trabajo NPR no muestra significancia; sin embargo, se incluye en la discusión con propósitos descriptivos.

La asociación de LR con NPR ($r=0.26$) y LCC ($r=0.16$) son positivas pero no significativas; es decir, una alta longitud de radícula no necesariamente produce mayor cantidad de primordios radiculares; condición semejante para con LCC. Es notable que el promedio de NPR en los genotipos PE fue el más bajo, mientras que E y su papel como polinizador de madres PE fueron significativamente los más altos, 65% más que la media general.

Los primordios radiculares PR (Fig. 4.1a, b) son formados comúnmente desde el periciclo y a veces de la endodermis; esta revelación se corrobora en este trabajo y están en concordancia con lo mencionado por Esau (1965) y Bell y McCully (1970). Los PR inician su desarrollo a los tres días de edad (Fig. 4.1a, b y c), resultados similares a los de Hoecker y Hochholdinger (2006), quienes mencionan que en maíz las raíces laterales en la radícula inician su desarrollo aproximadamente a los cuatro días post-germinación y se hacen visibles a los cinco días.

La mayor densidad de primordios fue registrada en el grupo de cruzas entre PE y E, cualquier dirección; el promedio de éstos fue 11 primordios en 5 cm de radícula, valor muy superior a los 6 primordios que en promedio presentaron los genotipos PE; nótese otra vez que el dato de primordios en radículas múltiples no es la suma sino el promedio de las 2 ó 3 radículas

presentes; también, hay que tomar en cuenta que una semilla que genera dos o más estructuras (plúmulas y radículas múltiples) al germinar, debe tener un alto gasto energético, a partir de prácticamente el mismo monto de reservas nutrimentales de las semillas normales, las cuales hacen el gasto para una sola plántula y un sólo sistema radical seminal. De esta manera, es comprensible que la semilla múltiple al germinar reduzca de algún modo la velocidad en sus procesos en esta etapa de desarrollo.

La radícula y los primordios de ésta, una vez emergidos, poseen la capacidad de formar raíces secundarias, terciarias y de más alto orden, contribuyen a la densidad y arquitectura de la raíz, lo cual fortalece el anclaje temprano y la absorción de agua y nutrientes (Esau, 1965; Lynch, 1995; Hochholdinger y Feix, 1998; McCully, 1988). En esta comprensión del sistema radical seminal, puede derivarse que la desventaja de los genotipos PE en estas características pudiera afectar el desarrollo del sistema e impactar de algún modo el establecimiento de la plántula.

Algunos autores han observado que la radícula y el resto de las raíces seminales mueren o cesan su desarrollo después de la aparición de las raíces nodulares (Lawson y Hanway, 1977; Feldman, 1994). Sin embargo, hay evidencias de que la radícula y sus raíces laterales son suficientes para formar una planta madura y fértil, como demostraron Hertz *et al.* (1996) por la acción del mutante monogénico recesivo *rtcs* que limita la aparición de raíces nodulares y raíces laterales seminales. En este sentido, es posible y

recomendable seleccionar genotipos PE con mejor aptitud para sistema radical seminal de más rápido desarrollo.

Por otra parte, desde el punto de vista transversal, DR (diámetro de radícula) muestra una correlación prácticamente de cero con NCC ($r=0.04$); el genotipo que obtuvo mayor diámetro tampoco reflejó mayor número de capas corticales; caso contrario sucedió en el caso de la variable NMX, la cual presentó una correlación positiva y significativa con DR; sin embargo, el DR no presentó diferencias entre genotipos, notándose que la cruce entre los genotipos poliembriónicos CxD fue la superior en las dos características, influenciada mayormente por la condición de dos radículas unidas, que comparten tejidos en sus estructuras.

El hecho de que la variable DR no haya presentado diferencias estadísticas entre genotipos pudiera significar poca influencia o menor efectividad de la característica en el desarrollo de la plántula de maíz, ya que esta condición estaría correlacionada con un incremento en el volumen de la raíz, lo cual pareciera que no es primordial en esta etapa, donde si se requiere una mayor elongación de la radícula (LR), que de lograrse, redundaría de manera eficiente en el incremento de la superficie de absorción de las raíces, como lo mencionan Hoecker y Hochholdinger (2006).

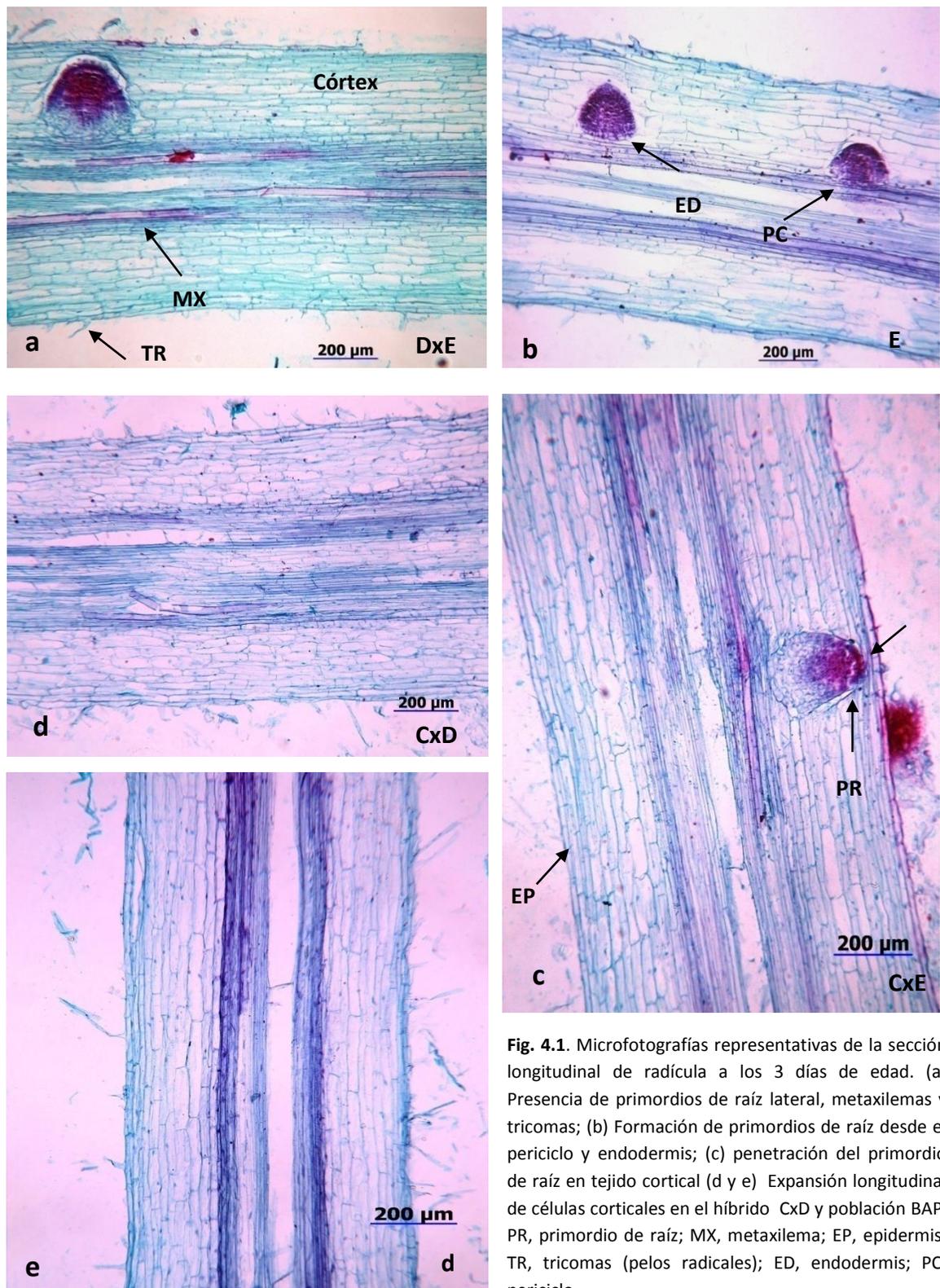


Fig. 4.1. Microfotografías representativas de la sección longitudinal de radícula a los 3 días de edad. (a) Presencia de primordios de raíz lateral, metaxilemas y tricomas; (b) Formación de primordios de raíz desde el periciclo y endodermis; (c) penetración del primordio de raíz en tejido cortical (d y e) Expansión longitudinal de células corticales en el híbrido CxD y población BAP. PR, primordio de raíz; MX, metaxilema; EP, epidermis; TR, tricomas (pelos radicales); ED, endodermis; PC, periciclo.

El análisis de varianza mostró que sólo tres de las seis variables de características histológico abordadas en este estudio mostraron diferencias entre genotipos ($P \leq 0.05$ ó menor).

Cuadro 4.3. Cuadrados medios y significancia de variables relevantes en cortes histológicos en radícula de 3 días de edad.

FV	g.l.	LCC (μm)	NCC	NMX
Genotipos	8	12199.8 *	38 *	32.3 **
Error	16	9673.7	28.7	12.0
CV %		11.6	13.6	12.8
Media		198.7	9.2	6.4

*, ** =Significativo al 0.05 y 0.01 de probabilidad; g.l.= Grados de libertad; CV= Coeficiente de variación.

La variable LCC se ve favorecida por la hibridación en general donde intervienen los genotipos E y los PE, promediando longitud de 211 μm ; caso opuesto fue la de los genotipos PE, cuyo promedio general fue de 183 μm , valor notablemente inferior a la media general. Sin embargo, en este estudio no hay evidencia clara si la ventaja aparente de los genotipos híbridos les confiere ventaja significativa en cuanto a longitud de radícula. Estos resultados no son concordantes con los reportados por Hoecker y Hochholdinger (2006), quienes señalan que el incremento de la longitud de las células corticales está asociado a la longitud de la radícula; esto, por supuesto, en maíces comunes.

Los datos también confirman que la cruce CxD presenta entre los promedios nominalmente más altos para LR; sin embargo, este híbrido ocupó el último lugar para LCC (Fig. 4.2a); esta condición sugiere que la longitud de la

radícula pudiera estar asociada al número de células contenidas en este órgano.

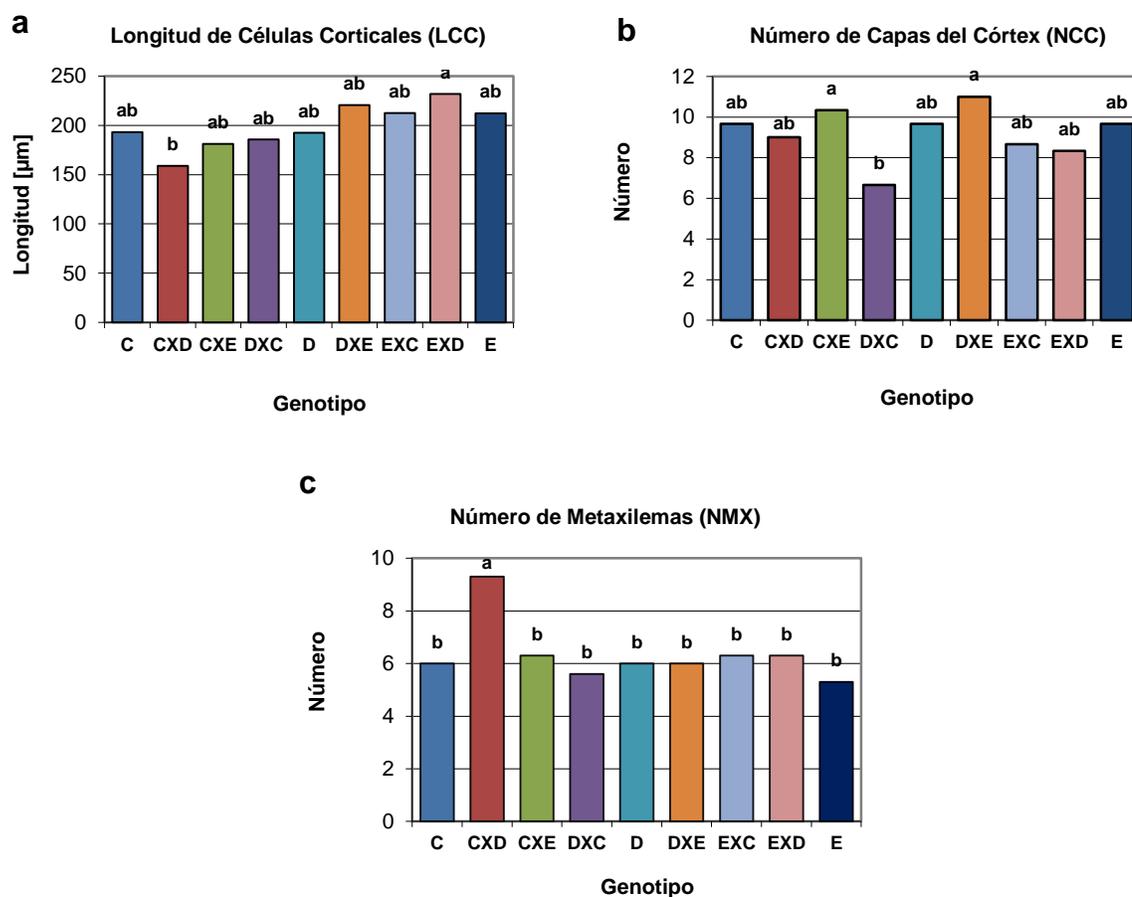


Fig. 4.2. Gráficos de variables que mostraron diferencias estadísticas entre genotipos (Tukey $\alpha=0.5$); medias con la misma letra son estadísticamente iguales.

El número de capas corticales (NCC) discrepa estadísticamente ($P \leq 0.05$) entre genotipos; las combinaciones más sobresalientes fueron DxE y CxE (Fig. 4.2b). Esta respuesta parece tener alguna relación genética al combinarse germoplasma contrastante (PE y No-PE), donde la fuente materna es de naturaleza poliembriónica. Por otra parte, es razonable suponer que el NCC

correlacione positivamente con DR; sin embargo, en este estudio, los genotipos mencionados arriba, que son los de mayor número de capas del córtex, no presentaron el mayor diámetro de radícula. De cualquier modo, el número de capas observados en este trabajo coinciden con el rango (8-15 capas) reportado por Hochholdinger (2004a).

Dentro del cilindro vascular de la radícula, los metaxilemas tienen la capacidad de transportar agua y nutrientes (Hochholdinger, 2009). La variable NMX presentó diferencias estadísticas ($P \leq 0.01$) entre genotipos. La combinación CxD sobresale con la mayor cantidad de estas estructuras (Fig. 4.2c), incluso muy superior a genotipos de su misma condición PE. Esta superioridad no puede ser atribuida a alguna clase de heterosis, ya que sus progenitores comparten un mismo origen genético, y su mayor diferencia se refiere al porte de planta (enana vs. normal); por lo tanto, la expresión superior puede estar influida por la PE, ya que en los tres especímenes analizados en este análisis presentaron radículas dobles fusionadas en tejido vascular. En contra parte, sus similares (C, D y DxC) sólo mostraron un caso de esta particularidad en sus radículas.

Lo destacable y novedoso en esta etapa de desarrollo del maíz, es que se pudo documentar diferentes versiones en la formación de radículas múltiples, individualizadas o con cierto grado de fusión (Figs. 4.3a, b, c, y d) y sus posibles implicaciones a nivel histológico, exclusivos de genotipos PE.

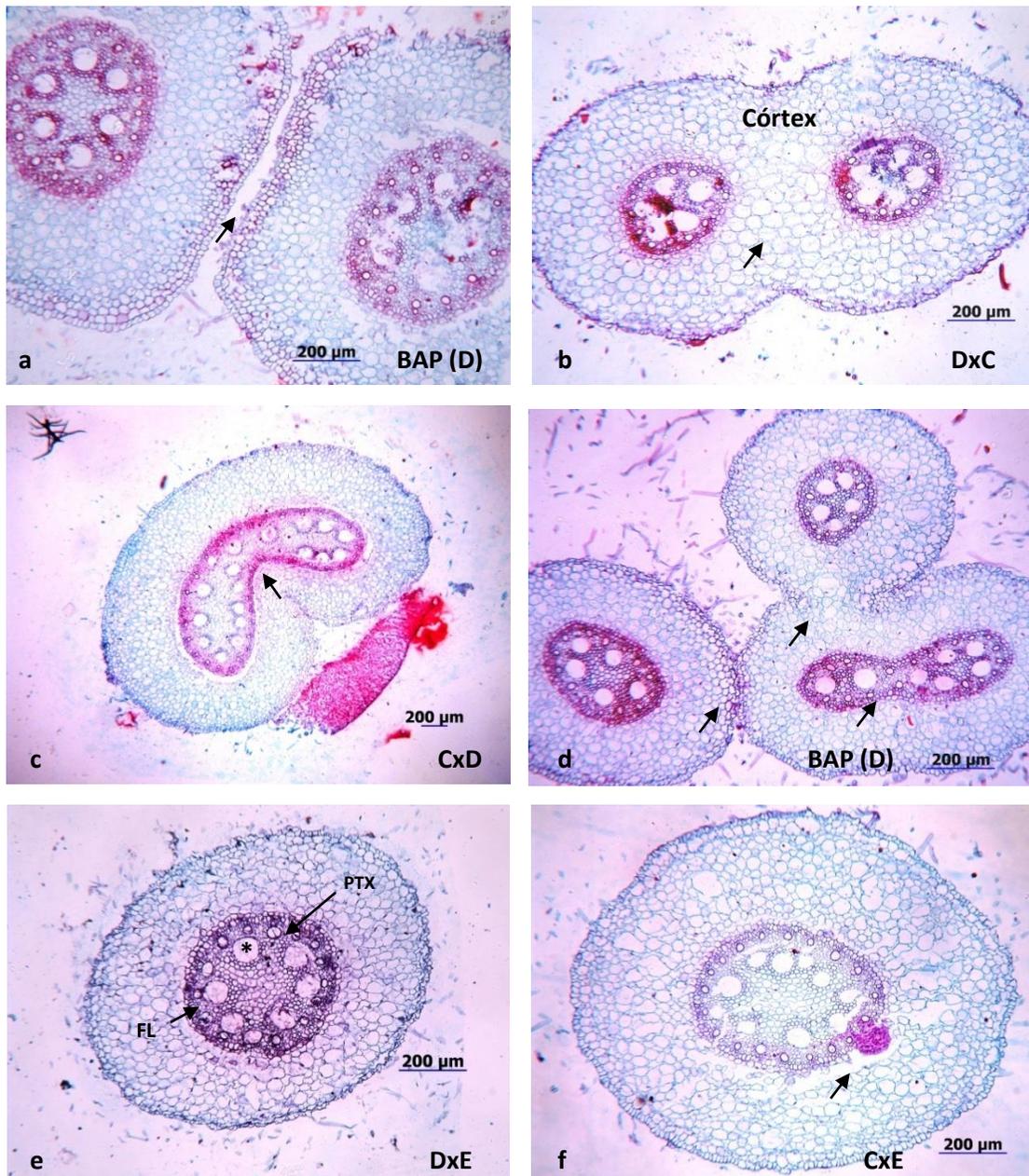


Fig. 4.3. Sección transversal de radícula a los 3 días de edad. (a) Radícula doble con estructuras independientes; (b) Radícula doble fusionada compartiendo tejido cortical; (c) Radícula doble fusionada compartiendo tejido cortical y cilindro vascular; (d) Radícula cuádruple, tres de ellas fusionadas y una separada por tejido epidérmico; (e) Cilindro vascular normal con metaxilemas (*), protoxilemas (PTX) y floemas (FL); (f) Radícula normal con desarrollo inicial de primordio de raíz lateral.

Los maíces comunes desarrollan invariablemente una radícula por semilla (Fig. 4.3f). Los genotipos PE tienen la capacidad de emitir ocasionalmente dos ó más radículas por semilla; entre sus variantes se documentó la formación de dos radículas en forma independiente; éstas no muestran alguna alteración en su anatomía comparado con los maíces ordinarios. Otra de las versiones, es la formación de dos radículas que comparten tejido cortical, pero cilindro vascular independiente; en contra parte, se presentan también dos radículas que comparten tejido cortical y cilindro vascular. Es de interés resaltar que estas tres características se presentan de manera conjunta a partir de la germinación de una sola semilla (Fig. 4.3d).

En este contexto, Erdelska (1996) menciona dos de tres tipos de PE en maíz que describen este fenómeno; una de ellas corresponden a que las células huevo están cercanamente adheridas pero separadas estrictamente por el tejido epidérmico con radículas independientes, la otra manifiesta un suspensor común, en el cual se comparten capas superficiales de la radícula; sin embargo, este autor no hace manifiesto la fusión de tejido vascular en las radículas.

La documentación analizada en este apartado, muestra la existencia de combinaciones favorables en maíz que pudieran generar un posible efecto aprovechable. Así mismo, este análisis histológico de radícula pudiera reflejar la capacidad de tal o cual genotipo de producir materia seca de manera eficiente; tal situación será abordada en el siguiente experimento.

4.2 Experimento 2. Desarrollo de Plántulas en Invernadero

El objetivo central del estudio fue determinar la producción de materia seca (MS) en raíz y tallo en plántulas de 21 días de edad, desarrolladas en invernadero; asimismo, se propuso determinar el grado de asociación entre raíz/tallo que pudiera significar algún tipo de equilibrio en la producción de materia seca en ambas partes de la planta. Rasgos de estas características pudieran ser indicadores confiables para calificar el comportamiento exitoso de la plántula hacia una planta madura y productiva. El material experimental aquí, fueron también los nueve genotipos mencionados en Materiales y Métodos.

Las primeras tres variables calificadas fenotípicamente aparecen en el Cuadro 4.4, y denotan la germinación general y dos de los atributos exclusivos de las poblaciones poliembriónicas (PE). La primera variable es muy buena para todos los genotipos, superando en mucho la proporción común esperada de 85% (Espinoza *et al.*, 1998; Espinoza *et al.*, 2005) y destacando notablemente los genotipos híbridos entre E con C y D.

Por otra parte, las variables FPE y FRM son; como se vio en el experimento anterior, únicas y exclusivas de los genotipos poliembriónicos, ya que la hibridación de ellos con genotipos de maíz, ajenos por completo a la condición PE, como lo es la población E, generan invariablemente genotipos F₁ de aspecto normal (planta por semilla), es decir No-PE y sin RM; se sabe también que la PE reaparece en las filiales F₂ o mayores, o cruzas de prueba

(test cross) como si fuera un carácter recesivo o afectado por efectos epistáticos, más que por genes de acción aditiva (Espinoza *et al.*, 2008).

Cuadro 4.4. Media y desviación estándar para germinación y dos variables exclusivas del fenómeno PE medidas a los 21 días de edad.

Genotipos	EM (%)	FPE* (%)	FRM* (%)
C	96±4	68±16	11±1
CxD	94±2	50±8	18±1
CxE	96±2	0	0
DxC	98±4	64±6	7±2
D	96±2	66±7	11±1
DxE	100±0	0	0
ExC	98±2	0	0
ExD	100±0	0	0
E	96±2	0	0

* Variables exclusivas para PE; C=Población NAP; D=Población BAP; E= HOC; EM=Por ciento de emergencia; FPE=Frecuencia Poliembriónica v FRM=Frecuencia de radículas múltiples.

La PE (Fig. 4.4a, b, c) se manifiesta en proporciones variables en función de la población a observar. La población fundadora partió de menos de 2% (Castro, 1973; Rodríguez y Castro, 1978). Otros investigadores como Pesev *et al.* (1976); Hallauer y Miranda (1988); Pilu (2000) hacen alusión a diferentes poblaciones a las estudiadas aquí, y reportan frecuencias de la poliembriónia muy por debajo de 30%. En esta investigación, la PE en las poblaciones C y D y las cruas entre ellas alcanzaron en promedio 62%. La manifestación más frecuente de la PE en estos grupos es de dos plantas por semilla; sin embargo, se ha venido aumentado la frecuencia de tres ó más embriones como respuesta a la selección aplicada para aumentar la frecuencia PE como lo mencionan Espinoza *et al.* (1998). La proporción de casos de tres o más plántulas es de 12 a 20% del total de la PE en C y D.

Los resultados de laboratorio (apartado anterior) y los aquí obtenidos corroboran que la PE observada en las poblaciones C y D se pierde en la F₁ por completo en hibridación con el genotipo Tuxpeño (Fig. 4.4d). Varios autores reportan que la PE en maíz es un carácter recesivo (Hallauer y Miranda, 1988; Pilu, 2000). El comportamiento reiterado de la PE en las poblaciones de este estudio (C y D) puede concordar con la propuesta planteada por Espinoza *et al.* (2008) quienes mencionan que la herencia de la PE en estas poblaciones pudiera corresponder a un patrón de interacción génica epistática, doble recesiva, penetrancia incompleta y expresividad variable.

De suma importancia es que la naturaleza del fenómeno PE en maíz presente variantes en el número de radículas por semilla germinada (Fig. 4.4b), esto en función del tipo y origen de la PE (Espinoza *et al.* 2006). En este trabajo, como era de esperarse, el fenómeno de radículas múltiples (RM) fue observado solamente en los genotipos PE; característica a considerar ya que en la germinación del maíz común sólo exhibe una radícula por semilla. La frecuencia de RM en este estudio se presentó en proporciones de 7 a 18%; estos resultados son comparables con los obtenidos por Espinoza *et al.* (2006) y Alcalá (2006), quienes reportan frecuencias en D y C de 11 y 20% respectivamente.

En las combinaciones híbridas de las poblaciones PE con Tuxpeño se establece el fenómeno invariable de una radícula por semilla. En contraparte, los híbridos en ambos sentidos entre las dos poblaciones PE se mantiene la

condición de RM. Estos resultados demuestran que tanto la formación de tallos múltiples como de RM son caracteres heredables, pero en proporción alta para tallos y baja para RM. Las implicaciones de contar con una mayor proporción de RM en las poblaciones PE están todavía por estudiarse.

Los casos detectados de RM en este trabajo bajo invernadero, corresponden a dos ó más radículas independientes pero que comparten otras estructuras seminales, como el mesocotilo e hipocotilo (Fig. 4.4b). No se detectó caso alguno de radículas múltiples con sistemas radicales completamente independientes por que simple y sencillamente no los puede haber; la semilla PE puede contener dos y hasta siete embriones, pero sólo posee un cotiledón y un endospermo, que normalmente suministran nutrimentos a todo el sistema seminal de germinación, por lo que dos o más embriones y radículas nacidas de una sola semilla, tendrán por fuerza que compartir al menos la estructura de sostén (escutelo), a más de otras estructuras seminales. (Clark y Sheridan, 1991; Erdelska; 1996; Espinoza *et al.*, 2009, comunicación personal) en maíz, y Vernon y Meinke (1994) en *Arabidopsis*.



Fig. 4.4. Plántulas de maíz de 21 días de edad; (a) Plántula PE cuádruple del híbrido CxD; (b) Radícula doble en el híbrido CxD; (c) Plántula PE doble perteneciente a la población D con tallos independientes compartiendo radícula, raíces seminales y presencia de raíces nodulares; y (d) Híbrido DxE No-PE con cuatro hojas completas.

En estudio histológico sobre semillas de maíz realizado por Erdelska (1996), la PE se origina de tres maneras, esto en función de la ubicación de los embriones en la semilla; una de ellas permite embriones múltiples con estructuras totalmente independientes; y las otras dos formas, pueden compartir una o más estructuras seminales a la germinación. Esto coincide con los tipos de PE detectados aquí y los reportados por Espinoza *et al.* (2006) y Alcalá (2006).

La evaluación de los genotipos a los 21 días de edad incluye otras nueve variables consideradas de importancia, y que se refieren a medidas de longitud y peso raíz/parte aérea, en estado fresco y seco, así como la relación entre algunas de ellas; éstas se abordan enseguida.

La etapa vegetativa de desarrollo a las tres semanas de edad en los materiales de este experimento correspondió a las etapas de 3ª y 4ª hojas, correspondiente a las denominadas V3 y V4 (abreviatura del inglés: vegetative third and fourth leaf) siguiendo a Ritchie *et al.* (1992); en esta etapa, el sistema radical seminal ha cesado su desarrollo (más no su función) y comienza el establecimiento pleno de las raíces nodulares, las que asumirán el control total de la sustentación de la planta en adelante.

El análisis de varianza, adecuado al de bloques completos al azar, aparece en el Cuadro 4.5. Los estadísticos muestran significancia para genotipos en todas las variables, a excepción del cociente de PSR/PSPA. El

número de hojas (NH) presentó diferencias entre genotipos ($P \leq 0.01$); de estos, los que formaron un número mayor de hojas fueron el progenitor E y sus cruzas con C y D, los cuales exhibieron un desarrollo más acelerado o precocidad. Sin embargo, debe aclararse que en los genotipos PE de casos múltiples, se tomó el promedio entre los números de hojas y tallos presentes, con la finalidad de representarlos como un sólo tallo. De no hacerse así, las poblaciones C y D y cruza, hubieran mostrado valores por arriba de 7 hojas en promedio.

Cuadro 4.5. Cuadrados medios y significancia; valores promedio de variables, prueba de Tukey $\alpha=0.05$, y otros estadísticos, en plántulas de maíz a los 21 días de edad, bajo invernadero.

FV	gl	NH	NRN	LR (cm)	LPA (cm)	PFR (g)	PFPA (g)	PSR (g)	PSPA (g)	PSR/PSPA (g)
Rep	2	0.005	12.72**	0.06	0.55	0.003	3.34*	0.0001	0.17**	0.04
Gen	8	0.338 **	6.15**	6.68**	15.44**	0.773**	5.03**	0.0094*	0.05**	0.01
Error	16	0.006	3.67	1.58	0.33	0.175	0.85	0.0024	0.01	0.01
	C	3.56 b	8.86 a	24.10 ab	20.42 d	7.15 ab	13.58 abc	0.689 ab	1.23 b	0.55 a
	CXD	3.56 b	8.16 ab	26.10 a	20.71 d	7.64 a	13.77 abc	0.708 ab	1.27 b	0.56 a
	CXE	4.10 a	6.20 cd	24.42 ab	23.21 bc	6.70 ab	11.95 bc	0.622 ab	1.10 b	0.61 a
	DXC	3.50 b	9.30 a	22.17 b	23.21 bc	6.13 b	12.77 bc	0.572 b	1.16 b	0.49 a
	D	3.26 b	9.06 a	24.32 ab	18.07 e	6.60 ab	12.52 bc	0.593 ab	1.10 b	0.69 a
	DXE	4.10 a	6.76 c	22.60 ab	22.46 c	6.90 ab	11.85 bc	0.641 ab	1.10 b	0.57 a
	EXC	4.03 a	6.80 bc	25.28 ab	24.75 ab	7.69 a	14.47 ab	0.735 a	1.28 b	0.63 a
	EXD	4.13 a	5.26 d	25.32 ab	25.39 a	7.37 a	15.47 a	0.720 a	1.52 a	0.48 a
	E	4.06 a	6.66 c	21.89 b	22.39 c	6.93 ab	11.72 c	0.649 ab	1.15 b	0.57 a
	CV %	1.97	6.42	5.23	2.56	6.00	7.01	7.41	6.52	12.42
	Media	3.81	7.46	24.03	22.29	7.01	13.13	0.66	1.22	0.58

*, ** = significativo al 0.05 y 0.01 de probabilidad; NH= Número de hojas; NRN= Número de raíces nodulares; LR= Longitud de radícula; LPA= Longitud de parte aérea; PFR= Peso fresco de raíz; PFPA= Peso fresco de parte aérea; PSR= Peso seco de raíz; PSPA= Peso seco de parte aérea; PSR/PSPA= Peso seco de raíz/Peso seco de parte aérea. Medias con la misma letra en la columna son estadísticamente iguales.

Por otra parte, el sistema nodular (o de corona) inicia su desarrollo poco después de la etapa VE (emergencia) y comienza en la corona o punto de crecimiento del coleoptilo durante la V1 (primera hoja); un a vez que se fortalece, tomará el control total de la sustentación de planta por la etapa V6 (Ritchie *et al.*, 1992; Nielsen, 2001; Hochholdinger, 2004b; 2009).

La formación de raíces nodulares (NRN) se manifestó en mayor medida en los genotipos PE (Cuadro 4.5); esto los hace estadísticamente diferentes a los genotipos No-PE. Esto pudiera indicar que el número de raíces nodulares está en función de la presencia de uno o más tallos provenientes del fenómeno PE, manifestando a su vez la urgencia de estas plántulas para obtener cantidades vitales de agua y nutrientes del suelo para continuar su desarrollo, y compensar en alguna medida las dificultades en el desarrollo radical seminal cuando tenía que desarrollar al mismo tiempo dos o más plúmulas a partir de la reserva nutrimental de una sola semilla.

Cabe mencionar, que la población E *per se* y en combinaciones con las poblaciones PE mostraron un retraso en la formación de raíces nodulares; esta característica puede ser atribuible a que la reserva de nutrientes en la semilla es suficiente para suministrar cantidades vitales de nutrimentos a una sola plántula, y por lo tanto, la emergencia de las raíces nodulares toman un ritmo menor al de las PE; esto también puede suponer la necesidad de las plantas PE de generar dos ó más radículas.

La longitud de la radícula LR (Cuadro 4.5) es en promedio ligeramente mayor en los genotipos PE (24 cm) que la mostrada por E y sus cruzas con los PE. Caso opuesto se presentó en la longitud de la parte aérea, en el cual el grupo de E en cruza con los PE presentó mayor longitud que los PE. Mayor desarrollo en la parte aérea y menor longitud de radícula pudiera reflejar la suficiencia de nutrientes en ésta etapa de desarrollo; los genotipos PE mostraron el estado contrario, probablemente en preparación para nivelarse en etapas posteriores del desarrollo juvenil de la planta.

Por otro lado, en sentido general, el peso fresco de raíz (PFR) se comportó por debajo del obtenido en la parte aérea (PFPA), la cual fue el doble de la primera, a pesar de que la longitud de ambas fue prácticamente la misma (22 y 24 cm). De manera concomitante, el peso seco de la parte aérea (PSPA) es 184% mayor que el peso seco de la raíz (PSR); no obstante, la raíz es más densa ya que la MS de la parte aérea es sólo 9%, mientras la raíz es de 11%. Estos rasgos contrapuestos pueden estar influidos por la condición genética de las plántulas, debido a diferencias en las necesidades de desarrollo entre genotipos, principalmente los demandados por los PE.

Los genotipos No-PE superaron en el peso fresco de raíz a los PE en 20%; además de una mayor densidad de raíz, resultando 14% superiores; en tanto, para las características PFPA y PSPA (13 y 1.2 g respectivamente) el comportamiento fue de la misma magnitud para estos dos grupos. Estos resultados dejan claro que la condición de dos radículas y número de tallos por

plántula en los maíces PE no les confiere ventaja aparente en esta etapa de desarrollo. Así mismo, la superioridad en peso fresco y densidad de la raíz en los grupos No-PE pudieran reflejar una mayor aplicación de la reserva en el establecimiento del sistema radical, y por ende de la plántula.

Adicionalmente, la variable compuesta PSR/PSPA es un parámetro que a veces es usado para estimar la proporción de MS en raíz (Amos y Walters, 2006). Esta relación con un cociente mayor a la unidad, indicaría mayor proporción de MS en la raíz en etapa de plántula o juvenil de la planta de maíz, lo cual pudiera reflejar la capacidad de anclaje temprano y el inicio eficiente de la absorción de agua y nutrientes Espinoza *et al.* (2006).

Sin embargo, en este trabajo, el cociente de PSR/PSPA no presentó diferencias estadísticas como puede apreciarse en el Cuadro 4.5. La materia seca producida en raíz sólo representa en general el 60% del monto de MS en la parte aérea; por lo tanto, los resultados quedaron lejos de un cociente igual o superior a 1; definitivamente, este no fue el caso de los genotipos bajo estudio, tal vez por que son representantes de poblaciones y, por lo tanto, presentan una gran variación.

Hay indicios de que los híbridos comerciales de mayor productividad muestran un cociente mayor a la unidad. En estudios a nivel plántula (10 días de edad) el híbrido comercial DK 2020 sometido a estrés por sequía con manitol y expuesto a *Fusarium moniliforme* (Sheld) obtuvo un cociente superior a la

unidad en los dos ensayos, en el orden de 1.6 y 1.2 (promedio de testigos) respectivamente (Alcalá, 2006). Esta característica pudiera ser tomada como indicador de productividad y usarlo como patrón para calificar nuevos materiales como eficientes o de alto potencial productivo.

Los resultados obtenidos en este apartado, pudieran determinar la dirección en el comportamiento hacia una planta madura y productiva de los genotipos más sobresalientes, juzgados a partir de la producción de MS, lo cual pudiera impactar positivamente en el rendimiento.

4.3 Experimento 3. Ensayos de Rendimiento

Las dos secciones previas contienen descripción, resultados y discusión relativos al manejo aplicado a nueve genotipos de maíz, materia de este trabajo, en dos etapas de desarrollo en plántula; concretamente, sobre características histológicas de radícula de tres días y variables relevantes de plántulas a las tres semanas edad. Ahora bien, en esta sección se abordarán aspectos del comportamiento productivo de planta adulta, calificados en dos localidades geográficas con vocación en la producción de maíz. El objetivo aquí fue obtener información que permita calificar agronómicamente a los genotipos y estimar algunos parámetros genéticos (ACG, ACE, Efectos recíprocos) y relacionarlos en retrospectiva con parámetros análogos calculados en las primeras dos etapas. El tema de parámetros genéticos se abordará en la cuarta y última sección de este Capítulo.

Los ensayos, llevados a cabo en Buenavista, Saltillo (LOC 1) y Calvillo, Aguascalientes (LOC 2) durante el ciclo P-V, 2008, incluyeron a los nueve genotipos derivados de un diseño de apareamiento dialélico completo (método 1 de Griffing) a partir de tres poblaciones de maíz. Los materiales se dispusieron en diseño de bloques completos al azar, tres repeticiones; el manejo agronómico, la relación de variables de respuesta, así como las poblaciones bajo estudio fueron descritos en el Capítulo III.

Las variables abordadas en detalle en esta sección son: días a floración masculina (FM), acame de raíz (AR), y rendimiento de mazorca (REND), dada su relevancia en producción y de relación con los estudios en plántula. Los datos corresponden al análisis por localidad por considerarlos los más adecuado para apreciar el comportamiento agronómico de los genotipos; la información relativa a todas las variables en las dos localidades y el análisis combinado aparecen en los Cuadro A1 del Apéndice.

Cuadro 4.6. Cuadrados medios y significancia de nueve genotipos de maíz, evaluados en dos localidades.

FV	g.l.	FM		AR		REND	
		(días)		(%)		(ha ⁻¹)	
		Loc 1	Loc 2	Loc 1	Loc 2	Loc 1	Loc 2
Rep	2	11.44	27.15	0.002	0.002	15.31 *	0.18
Gen	8	6.92 **	36.20	0.003	0.003 *	7.32 *	18.90 **
Error	16	1.74	14.23	0.001	0.001	3.03	3.24
CV%		1.5	5.3	3.6	3.1	15.9	22.6

g.l.= Grados de libertad; FM= Días a floración masculina; AR= Acame de raíz; REND= Rendimiento de mazorca al 15.5% de humedad. CV= Coeficiente de variación.

Los progenitores C y D proceden de la misma base genética; mientras que la población E proviene de un grupo completamente ajeno, por lo que puede fácilmente establecerse discrepancias entre ellos. Por tal motivo, era de esperarse que los progenitores y sus cruzas se diferenciaron en alguna medida, dentro y entre ambientes (Cuadro 4.6).

Para valorar el potencial agronómico de los genotipos y detectar aquellos que causaron la mayor variación, se comparó el comportamiento promedio que presentaron los progenitores y sus cruzas mediante la prueba de rango múltiple

Tukey (Cuadro A2). En general, las características agronómicas de los cuatro genotipos que manifiestan directamente la poliembrionía (PE) resultaron en valores promedio por debajo de los No-PE (Cuadro 4.7).

Si bien, los genotipos PE tienen valores altos en cuanto a FM y AR en las dos localidades, estas son características consideradas generalmente indeseables en el diseño de variedades transferibles al aparato productivo; actualmente, se requieren materiales de ciclo corto y de alto rendimiento, además de otras características que minimicen riesgos en el proceso productivo; estos permiten el ahorro de recursos tanto económicos como naturales y son potencialmente más redituables al agricultor.

Cuadro 4.7. Valores promedio y desviación estándar de las tres variables agronómicas de los genotipos PE y No-PE.

Genotipos	FM		AR		REND	
	(días)		(%)		(t mazorca ha ⁻¹)	
	Loc 1	Loc 2	Loc 1	Loc 2	Loc 1	Loc 2
PE	89±2	75±0	8±4	16±11	9.1±2	6.6±0
PExPE	90±0	73±4	12±1	19±8	10.8±1	4.5±0
No-PE	87±0	68±0	1±0	4±0	12.3±0	9.6±0
PExNo-PE	87±1	68±2	1±1	12±3	11.7±1	10.0±1

PE= C y D; PExPE= cruzas directas y recíprocas entre C y D; No-PE= Tuxpeño; PExNo-PE= cruzas directas y recíprocas entre C, D y E; FM= Días a floración masculina; AR= Acame de raíz; REND= Rendimiento al 15.5 % de humedad.

La variable FM mostró diferencias entre genotipos sólo en la LOC 1 (Cuadro A3); sin embargo, el poder de la prueba de Tukey no logró discriminar entre genotipos; de cualquier modo, el caso se analizó entre localidades dado al contraste tan marcado entre éstas. Como puede apreciarse en el Cuadro 4.7,

los días a floración (FM) rebasaron los 85 días en la LOC 1 y establecen una diferencia de al menos 15 días más que la observada en la LOC 2. En general, los genotipos PE mostraron en promedio un retraso de dos días con respecto a los No-PE, en las dos localidades ($P \leq 0.01$).

Por otra parte, productivamente el acame de raíz (AR) es un factor de importancia, ya que una proporción alta de ella en campo afecta negativamente los procesos de cosecha y el volumen de ésta; algunos datos al respecto señalan pérdidas de rendimiento entre 5 hasta 25% (Zuber y Kang, 1978). En este ensayo, son notables las diferencias de acame de raíz entre localidades, resultando la LOC 2 con la mayor incidencia y notable variación entre genotipos. Los genotipos PE resultaron más afectados que los No-PE. Las diferencias tan notables del grupo PE entre localidades, indica que la localidad Calvillo es un ambiente muy desfavorable para ellos en cuanto a AR; esta condición propició que los genotipos PE se vieran afectados en grado notable en cuanto a rendimiento.

En las dos localidades, la siembra se llevó a cabo alojando una semilla por golpe, ya que así lo requiere la práctica agrícola con genotipos PE; esta situación impidió que en los establecimientos experimentales se lograra el número deseado de plantas por parcela (23) en los nueve genotipos y repeticiones; de no obtenerse, como fue el caso, puede afectar de manera importante la valoración de la variable rendimiento por diferencias en el número

de plantas por parcela; para subsanar este déficit se realizó un ajuste por covarianza en cuanto al número de plantas.

Los genotipos No-PE fueron superiores en rendimiento (2 t ha^{-1}) al alcanzado por los grupos PE en la LOC 1; en tanto, la mayor diferencia se presentó en la LOC 2, en la cual, los híbridos de No-PE y E superaron a las PE en 4.5 t ha^{-1} ; en general, el rendimiento discrepó en 3 t ha^{-1} entre localidades, lo que las hace diferentes estadísticamente (Cuadro A3).

Es importante señalar el comportamiento en rendimiento de mazorca de las poblaciones C, D y sus combinaciones entre ellas, el cual fue muy superior en Buenavista comparado con Calvillo; esta respuesta es atribuible a la adaptación de estos materiales a través de ciclos de selección practicados en el primer ambiente, en el cual fueron originados.

En la LOC 1 el genotipo de mayor potencial productivo fue el híbrido CxE; mismo que registro nula frecuencia de acame de raíz. En cambio el híbrido DxE mostró mayor capacidad productiva en LOC 2. Los dos genotipos superan notablemente el comportamiento promedio de sus progenitores. Estos híbridos pudieran determinar un patrón heterótico alternativo dada las distancias genéticas entre sus progenitores.

En este sentido, cuando se desea apreciar el fenómeno de heterosis en alguna combinación híbrida, ya sea con material de amplia ó reducida base genética, se ha hecho el uso de la variabilidad genética que presentan los

progenitores. Esta diversidad se ha enfocado principalmente en las diferencias de la expresión de uno o varios caracteres (Vasal y Córdova, 1996; Latournerie *et al.*, 1998; Bernardo, 2001).

Si se considera lo anterior, era de esperarse que en este trabajo, el cruzamiento entre los grupos PE y E fuera muy superior al comportamiento de los mismos; esto debido a que los progenitores presentan características contrastantes en altura de planta, origen geográfico, precocidad y tipo de grano. Este comportamiento fue reiterado a través de las tres etapas de evaluación, objeto de este estudio.

La importancia de estos resultados, reflejan el potencial que presentan los grupos para generar descendencia con un comportamiento agronómico aceptable, dando la oportunidad de iniciar un programa de mejoramiento genético involucrando estos grupos germoplásmicos.

En adición, para iniciar un programa de mejoramiento es necesario conocer el potencial genético (ACG, ACE y Heterosis) que poseen las poblaciones involucradas, lo que permitiría tomar las mejores decisiones en cuanto al método de mejoramiento usar y cuales genotipos. La parte relativa a parámetros genéticos en este estudio se aborda en la siguiente sección.

4.4 Parámetros Genéticos y Heterosis

En este cuarto y último apartado, se aborda de manera detallada las particularidades de los nueve genotipos en relación a sus efectos de aptitud combinatoria, general y específica (ACG y ACE), efectos recíprocos (ER) y heterosis; los parámetros se detallan para tres características de relevancia.

Los efectos genéticos fueron estimados acorde al método I de Griffing (1956). Estos parámetros se abordarán de manera conjunta, con el fin de tratar de identificar algún tipo de relación entre los estimados en etapas tempranas con los de planta adulta.

Es oportuno señalar que los ANVA relativos al comportamiento agronómico de los genotipos fueron calculados para cada localidad por considerar la forma más adecuada en el propósito de apreciar el comportamiento de los genotipos en cada uno de los ambientes de prueba.

Las diferencias estadísticas entre genotipos para prácticamente todas las variables, tres en cada una de las tres etapas bajo estudio (Cuadro 4.8 y 4.9) permitió llevar a cabo la descomposición del monto de esta fuente de variación en parámetros relativos a ACG, ACE y ER (que incluye efectos maternos y No-maternos). La información derivada por estos medios permite determinar la influencia genética en determinada variable, en tal o cual etapa de interés.

Cuadro 4.8. Cuadrados medios y significancia estadística de nueve genotipos de maíz, en etapa de radícula de tres días de edad y plántula de 21 días.

FV	g.l.	NCC	LCC	NMX	NH	PSPA	PSR
		(n)	(μ m)	(n)	(n)	(g)	(g)
Rep	2	0.78	239.23	1.04	0.004	0.172 **	0.000
GEN	8	4.75 *	1524.98 *	4.04 **	0.351 **	0.054 **	0.009 *
ACG	2	2.06	2704.52 *	2.48 *	0.952 **	0.0003	0.009
ACE	3	3.60	1353.11	2.22 *	0.291 **	0.034 **	0.004
REC	3	7.70 *	910.49	6.89 **	0.010	0.110 **	0.015 **
MAT	2	8.76 *	1354.26	7.45 **	0.015	0.161 **	0.018 **
NMAT	1	5.58	22.95	5.78 **	0.000	0.008	0.008
Error	16	1.69	574.70	0.62	0.006	0.006	0.002
CV (%)		13.7	11.7	12.8	2.0	6.5	7.4
Media		9.2	198.7	6.4	3.8	1.2	0.7

*, ** = Significativo al 0.05 y 0.01 de probabilidad; ACG= Aptitud combinatoria general; ACE= Aptitud combinatoria específica; REC= Efectos recíprocos; MAT= Efectos maternos; NMAT= Efectos no maternos; CV= Coeficiente de variación; g.l. = Grados de libertad.

Cuadro 4.9. Cuadrados medios y significancia estadística de nueve genotipos de maíz en etapa de planta adulta.

FV	g.l.	FM (Días)		AR (%)		REND t mazorca ha-1	
		LOC 1	LOC 2	LOC 1	LOC 2	LOC 1	LOC 2
Rep	2	11.44 **	17.44	0.0030	0.0118	15.31 **	0.18
GEN	8	6.92 **	28.50	0.0017	0.0004 *	7.32	18.90 **
ACG	2	17.01 **	61.23 *	0.0033	0.0013 **	21.32 **	48.27 **
ACE	3	7.00 **	30.66	0.0002	0.0018	3.69	13.69 *
REC	3	0.11	4.52	0.0021	0.0052	1.63	4.52
MAT	2	0.16	5.40	0.0031	0.0070	1.84	4.85
NMAT	1	0.00	2.76	0.0001	0.0014	1.20	3.86
Error	16	1.74	16.49	0.0014	0.0011	3.03	3.24
CV (%)		1.50	5.3	3.6	3.1	15.9	22.6
Media		88	70	4.80	13.60	10.96	7.97

*, ** = Significativo al 0.05 y 0.01 de probabilidad; ACG= Aptitud combinatoria general; ACE= Aptitud combinatoria específica; REC= Efectos recíprocos; MAT= Efectos maternos; NMAT= Efectos no maternos; CV= Coeficiente de variación; g.l. = Grados de libertad.

Como puede apreciarse en estos cuadros, los efectos de ACG presentaron diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$ y 0.01) en seis de las

variables, mientras que los de ACE se presentaron en cinco de ellas. Estas diferencias son un indicativo que las poblaciones poseen diferente capacidad para transmitir sus características a la descendencia, y que presentan además un desempeño diferente en combinaciones híbridas específicas.

Sin embargo, hay que hacer notar que las variables NCC, NMX, PSPA y PSR presentaron también diferencias estadísticas ($P \leq 0.05$ y 0.01) en los efectos recíprocos; es decir, que la dirección de cruce influyó en el comportamiento desigual para estas variables; la interpretación sobre este punto será abordada más adelante.

Con base en la descomposición de la fuente de variación Genotipos, se calculó la proporción de varianzas para cada una de las variables, considerada en cada etapa (Cuadro 4.10).

En este contexto, los efectos de acción aditiva se presentaron en las variables LCC (radícula), NH (plántula de 21 días) y para las tres variables agronómicas (las dos localidades), lo que indica la importancia de los efectos aditivos en estos caracteres. Los resultados de este trabajo son comparables con los obtenidos por Ajalay Fakorede (1988), Revilla *et al.* (1999) y Antuna (2003) quienes mencionan que los efectos aditivos son más importantes que los de dominancia en calidad de semilla y etapas iniciales de desarrollo en maíz; pero contrarios a los reportados por Cervantes *et al.* (2006) quienes establecen que los efectos no aditivos fueron los más importantes en etapas tempranas. En

tanto, para los caracteres de planta adulta, los resultados aquí obtenidos coinciden con los reportados por Hallauer y Miranda (1988) y Antuna (2003).

Cuadro 4.10. Contribuciones de varianza genética, a partir de la descomposición de la suma de cuadrados de la fuente de variación genotipos en las tres etapas de evaluación.

Etapa de desarrollo	Variables	Contribuciones de Varianza (%)				
		Aditivos ACG	Dominancia ACE	REC	MAT	NMAT
Radícula (3 días de edad)	NCC (n)	11	28	61	76	24
	LCC (μm)	44	34	22	99	1
	NMX (n)	15	21	64	72	28
Plántula (21 días de edad)	NH (n)	68	31	1	100	0
	PSR (g)	23	17	60	80	20
	PSPA (g)	1	23	76	97	3
Planta adulta	FM LOC1	62	37	1	100	0
	FM LOC2	54	40	6	78	22
	AR 1	69	23	8	96	4
	AR 2	71	8	21	93	7
	REND 1	73	19	8	75	25
	REND 2	64	27	9	71	29

ACG= Aptitud combinatoria general; ACE= Aptitud combinatoria específica; REC= Efectos recíprocos; MAT= Efectos maternos; NMAT= Efectos no maternos.

Los efectos recíprocos sólo se presentaron en las dos primeras etapas de desarrollo. En el caso de las variables NCC, NMX, PSR y PSPA, la aportación de esta varianza alcanzó más de 60% al total de la SC de las cruzas F_1 en cada variable; por lo tanto, al realizar los cruzamientos en ambos sentidos (directos y recíprocos) se generan cruzas que se diferencian en la expresión del

fenotipo en estas variables, condición que permite calificar a los genotipos más adecuados en la expresión de esas variables.

Para explicar las causas por las que hubo diferencias entre las cruzas F_1 directas y recíprocas en las variables afectadas, se desagregó la fuente de variación recíprocos en maternos (MAT) y no maternos (NMAT) de acuerdo a los procedimientos propuestos por Martínez (1983).

Los orígenes de los efectos recíprocos obtenidos aquí, son atribuidos en mayor medida a los efectos del tipo materno, los cuales muestran diferencias estadísticas ($P \leq 0.05$ y 0.01) en estas variables. Con tal evidencia, se asume que alguna población muestra un comportamiento diferente al utilizarlo como hembra o como macho en combinaciones híbridas a este nivel de desarrollo, ya que en planta adulta los efectos recíprocos desaparecen, dada la falta de significancia de estos efectos en el ANVA.

Estos resultados concuerdan con los reportados por Cervantes *et al.* (2006) y Revilla *et al.* (1999) quienes mencionan que los efectos recíprocos de tipo materno afectan el vigor inicial en plántulas de maíz; aunque en el caso de otra especie, como es el melón, Cano *et al.* (2000) reportan la situación contraria.

Considerando aquellas variables que mostraron efectos recíprocos, se tiene que la presencia de este fenómeno es un indicativo de la probable existencia de influencia materna, la cual es consecuencia del efecto de las

primeras etapas de desarrollo de los productos almacenados de genes en el citoplasma de la hembra (Corey *et al.*, 1976).

Siguiendo la interpretación de resultados de este estudio, se estimaron los efectos genéticos en las tres etapas de desarrollo. En el Cuadro 4.11 se puede observar que ninguno de los progenitores muestra valores de ACG estadísticamente diferentes de cero al aplicar la prueba estadística *t* de Student en el estudio histológico de radícula a los tres días de edad; al parecer en esta etapa de desarrollo tan temprana no fue posible detectar que la acción de los genes involucrados en el desarrollo inicial en estas poblaciones de maíz tengan repercusiones detectables en las variables de estudio.

En contraparte, para las etapas de 21 días de edad y planta adulta, los estimados de ACG para progenitores se magnifican. La variable NH reveló valores diferentes de cero, en la cual la población E contribuyó en mayor medida al número de hojas (0.3 hojas) y redujo las características agronómicas FM en la localidad de Buenavista, y para AR en Calvillo, esto por su valor de ACG negativo y significativo ($P \leq 0.05$); en tanto, para rendimiento (REND) la población E tuvo una contribución positiva de 0.92 y 1.8 t ha⁻¹ en una y otra localidad.

Otro de los aspectos importantes de los análisis dialélicos es estimar el comportamiento esperado de las combinaciones híbridas con base al funcionamiento de las poblaciones involucradas, es decir la ACE.

Los efectos de ACE se presentaron de manera significativa en las variables NCC y NMX en el análisis histológico de radícula de 3 días de edad; dichos valores corresponden a la cruz CxD; sin embargo, el valor negativo en la variable NCC es considerada como valor de cero, como lo señala Márquez (1998) para casos de números negativos en una componente.

Cuadro 4.11. Efectos de aptitud combinatoria general, específica, efectos recíprocos estimados bajo el método I de Griffing en tres poblaciones de maíz en tres etapas de desarrollo.

Gen	NCC	LCC	NMX	NH	PSPA	PSR	FM (días)		AR (%)		REND (t*ha ⁻¹)	
	(n)	(µm)	(n)	(n)	(g)	(g)	LOC 1	LOC 2	LOC 1	LOC 2	LOC 1	LOC 2
ACG												
C	-0.22	-11.31	0.24	-0.09*	-0.002	0.013	0.94*	1.72	0.014	0.024*	0.28	-1.14*
D	-0.17	-1.71	0.18	-0.18**	-0.004	-0.025	0.06	0.22	0.004	-0.006	-1.20*	-0.73
E	0.39	13.02	-0.43	0.27**	0.006	0.013	-1.00*	-1.94	-0.018	-0.018	0.92*	1.87*
ACE												
CXD	-1.00*	-13.39	0.70*	-0.01	0.007	-0.010	1.00*	-1.39	0.015	0.007	0.72	-1.48*
CXE	0.11	-3.57	0.15	0.07*	-0.024	0.010	-1.11*	-0.06	-0.012	-0.001	0.04	0.89
DXE	0.22	16.08	0.04	0.28**	0.094*	0.030	-0.22	-2.06	-0.005	0.010	0.46	1.21*
ER												
CXD	1.17	-13.34	1.85**	0.03	0.058	0.068*	0.00	0.67	-0.005	-0.027	-0.71	-0.19
CXE	0.83	-15.64	0.00	0.03	-0.088*	-0.037	0.16	1.17	-0.007	-0.007	0.42	-0.08
DXE	1.33*	-5.68	-0.15	-0.08	-0.209**	-0.040	0.16	-0.67	0.000	0.008	0.36	1.49
MAT												
C	1.00*	-14.49*	0.92*	0.05*	-0.018	0.016	0.08	0.92	-0.022	-0.031	-0.14	-0.13
D	0.08	3.83	-1.00*	-0.03	-0.133**	-0.054*	0.08	-0.67	0.005	0.002	0.53	0.84
E	-1.09**	10.67	0.08	-0.02	0.150**	0.038*	-0.16	-0.25	0.017	0.028	-0.39	-0.70
NMAT												
CXD	0.25	4.98	-0.07	-0.02	-0.060	-0.002	0.00	-0.92	0.012	0.020	-0.03	0.79
CXE	-1.25	9.52	-0.85	0.02	0.078	-0.014	-0.08	0.01	0.010	0.011	0.17	-0.65
DXE	0.17	1.15	0.92	0.00	0.073	0.052	-0.08	-0.25	0.007	0.018	-0.57	-0.05

*, ** = Significativo al 0.05 y 0.01 de probabilidad; ACG= Aptitud combinatoria general; ACE= Aptitud combinatoria específica; REC= Efectos recíprocos; MAT= Efectos maternos; NMAT= Efectos no maternos.

Por otro lado, el valor positivo de ACE en la misma combinación para el NMX es debido a la manifestación del fenómeno PE como se mencionó en el

primer apartado de este capítulo correspondiente al análisis histológico de radícula; tal situación provee de una condición atípica en los estimados de ACE en este híbrido.

En el estudio de plántula de 21 días de edad, se tiene estimados de ACE positivos y significativos ($P \leq 0.05$ y 0.01) en NH y PSPA. En la primera variable, las combinaciones DxE y CxE mostraron los valores más altos de ACE, en este orden, lo cual parece manifestar el potencial genético de estas combinaciones híbridas, superando notablemente a la crusa CxD, la cual es 100% poliembriónica (PE). En adición, la superioridad del híbrido DxE sobre CxE le propició ventaja en la variable PSPA.

Es importante señalar que los efectos recíprocos se presentaron sólo en las dos primeras etapas de evaluación; por lo tanto, es necesario diferenciar las cruas que presentaron estos efectos en ellas; así mismo, determinar el sentido de crusa al utilizar los progenitores.

Las variables con efectos recíprocos en histología de radícula fueron NCC y NMX. En la primera, la combinación DxE exhibe efecto significativo ($P \leq 0.05$) contra su recíproca ExD. El progenitor E, por tener un estimado negativo en los efectos maternos, tendría mejor respuesta si es utilizado como macho; por lo tanto, a la combinación DXE corresponde una mayor longitud de células corticales.

En la variable NMX, sólo la craza CxD presentó estimados de ER significativos ($P \leq 0.01$); los cambios en esta craza fueron debidos a que sus progenitores tuvieron estimados estadísticamente diferentes de cero en los efectos maternos; el progenitor C por tener un valor positivo tendrá mejor respuesta si es utilizado como hembra dado su valor positivo en efecto materno; situación contraria debe interpretarse para D, dado su efecto materno negativo.

Los ER son también notables en las variables de peso seco de parte aérea y raíz en plántulas de 21 días; para PSPA, las combinaciones CxE y DxE muestran valores negativos y significativos ($P \leq 0.05$ y 0.01 respectivamente) por lo tanto, las cruas recíprocas tendrán mejor respuesta en la acumulación de materia seca; determinados por el signo adquirido por sus progenitores, de manera análoga al caso de NCC y NMX.

Por otra parte, los estimados de aptitud combinatoria específica (ACE) en planta adulta, calculados por ambiente, sólo presentaron valores significativos en DFM para el ambiente Buenavista (LOC 1) y REND en el ambiente Calvillo (LOC 2). Para DFM las cruas significativas fueron CxD y CxE, con valor negativo y positivo respectivamente; estos resultados permiten establecer que el genotipo D influye de manera importante a retrasar la floración en este grupo de genotipos.

En el caso de REND, fue la craza DxE la que mostró valores positivos y significativos de ACE, determinándose así como el genotipo más rendidor en

LOC 2, resultado de la gran diferencia en los estimados de ACG de sus progenitores. Esta condición se enmarca en el contexto de casos señalados en Gómez *et al.* (1988), Márquez (1998) y Reyes *et al.* (2004) quienes detectan que la cruce simple tendrá un valor alto de ACE si al menos uno de sus progenitores es de alta ACG.

Heterosis

En la aplicación de un diseño dialélico completo (método 1 de Griffing) es posible calcular la heterosis, ya que en la mecánica de estimación de parámetros se incluyen los valores, tanto de progenitores como la de sus cruces en todo sentido.

El grado de heterosis con relación al progenitor medio (Lamkey y Edwars, 1998) para cada etapa de evaluación se presenta en el Cuadro 4.12. En un balance general en las tres etapas, como era de esperarse, los genotipos que mostraron los más altos valores de heterosis fueron las cruces entre las poblaciones PE con Tuxpeño (E). En este sentido, Hallauer y Miranda (1988) mencionan que para obtener mejor respuesta heterótica es conveniente combinar germoplasma proveniente de diferentes áreas de adaptación, bajo el supuesto que a mayor diversidad genética habrá mayor heterosis.

En la primera etapa de evaluación (radícula de tres días), los valores calculados de heterosis fueron bajos; sin embargo, hay valores que sobresalen como los obtenidos por el híbrido DxE para las variables NCC y LCC; en tanto,

para NMX los híbridos CxE, ExC y ExD participaron con el mismo porcentaje. En estudios morfológicos tempranos en maíz realizados por Kiesselback (1949) y Uzarowska *et al.* (2007) mencionan que la heterosis celular y a nivel organismo se describe como el incremento en número de mitosis, incrementando el número de células y por ende el desarrollo de los órganos vegetativos.

La condición atípica especial en número de metaxilemas, MNX, ocasionada por el fenómeno de radículas múltiples (RM), ligado a la PE, se presenta también en los estimados de heterosis; la cruce CxD muestra el valor más alto para esta característica; tal situación fuera improbable si no fuera por el fenómeno RM, ya que sus progenitores provienen del mismo pool genético; esta situación se hace notable en NCC y LCC, en las cuales los valores de heterosis fueron negativos en cruces donde interviene sólo C y D.

En el estudio de plántula a 21 días de edad, los valores calculados de heterosis también revelan valores promedio bajos, pero por arriba de los obtenidos en la primera etapa. Dentro del juego de cruces, los porcentajes más sobresalientes son los obtenidos por el híbrido ExD en las tres variables (NH, PSPA, PSR); en general, la superioridad de las combinaciones de PE con E se mantiene, situación reiterada debido a las diferencias en el acervo genético de los progenitores.

En la tercera y última etapa de desarrollo (planta adulta), dos de las tres variables son consideradas generalmente como indeseables (prolongada FM y AR alto). En la valoración de la heterosis en variables calificadas como no-deseables, es intuitivo obtener genotipos que tengan el menor valor posible o negativo para estos caracteres. En este contexto, los porcentajes de heterosis negativos serán tomados como buenos (Melani y Carena, 2005); lo cual significa que la característica se reduce al combinar los progenitores involucrados.

Cuadro 4.12. Por ciento de heterosis para diferentes variables, etapas diferentes de desarrollo, en cruzas de tres poblaciones de maíz.

Genotipo	NCC	LCC	NMX	NH	PSPA	PSR	FM (días)		AR (%)		REND (t*ha ⁻¹)	
	(n)	(µm)	(n)	(n)	(g)	(g)	LOC 1	LOC 2	LOC 1	LOC 2	LOC 1	LOC 2
CxD	-6.9	-17.6	55.6	4.4	9.1	10.5	1.5	-4.3	48.8	-15.8	10.8	-32.3
CxE	6.9	-10.6	11.8	7.4	-7.2	-1.0	-1.9	-0.9	-100	-5.8	9.5	19.6
DxE	13.8	8.9	5.9	11.8	-2.6	3.3	-0.4	-7.7	-64.3	115	16.9	44.1
DxC	-31	-3.7	-5.6	2.5	-0.8	-10.7	1.5	-6.0	79.9	67.2	26.4	-26.5
ExC	-10.3	4.9	11.8	5.7	7.5	10	-2.3	-4.2	-48.6	21.6	2.2	21.6
ExD	-13.8	14.5	11.8	12.7	34.3	16	-0.8	-5.9	-65.2	63.1	9.6	7.8
Het Prom	-6.9	-0.6	15.2	7.4	6.7	4.7	-0.4	-4.8	-24.9	40.9	12.6	5.7

Heterosis promedio.

Tomando en cuenta lo anterior, los mejores valores de heterosis en FM fueron los obtenidos por los híbridos CxE y ExC en LOC 1; en tanto que en Calvillo (LOC 2) todos los genotipos mostraron un grado negativo de heterosis, sobresaliendo los obtenidos por DxE, lo cual significa que en este ambiente, todas las combinaciones híbridas fueron más precoces. Esta situación revela el

marcado contraste entre las dos localidades y la respuesta correspondiente de los genotipos.

El acame de raíz (AR) presentó un comportamiento similar; el genotipo CxE exhibió una condición totalmente opuesto al de sus progenitores en la LOC 1 ya que mostró cero acame. Esta combinación resultó en una buena alternativa para reducir pérdidas por esta causa, que afecta principalmente al rendimiento.

Retomando el análisis tradicional de heterosis; la variable rendimiento exhibió valores altos en el híbrido DxE, el cual muestra 30% de heterosis en las dos localidades. Este valor puede ser aprovechable, dado que en fitomejoramiento se considera que el nivel de aprovechamiento de heterosis es de cuanto menos 20% (Vasal y Córdova, 1996). Por lo tanto, es factible utilizar estos dos grupos germoplásmicos en un programa de mejoramiento genético con énfasis en rendimiento.

4.5 Correlación entre Caracteres de Plántula y Planta Adulta

El desarrollo de variedades de maíz de alto rendimiento es un proceso largo y costoso; esto puede reducirse utilizando métodos que consideran la calificación de comportamiento de los genotipos durante etapas tempranas de su desarrollo. Con un enfoque en esta estrategia, esta última sección aborda la relación de caracteres de plántula y de planta adulta, y se comparan con los efectos genéticos obtenidos del diseño de apareamiento dialélico; este ejercicio

permitiría un manejo más certero en la selección de genotipos, sobre todo aquellos con atributos especiales.

La expresión fenotípica de los materiales genéticos determinada por los valores medios de las características bajo estudio, muestran una notable asociación entre las variables de las tres etapas (Cuadro 4.13). Si bien, las asociaciones en general son inconsistentes, también destacan algunos genotipos con un comportamiento aceptable a través de las tres etapas de desarrollo. Los genotipos con mayor NCC, LCC y menor número de NMX estuvieron asociados con mayor NH y sólo dos de los genotipos con mayor acumulación de materia seca (MS); estos genotipos también se caracterizaron por ser los más precoces y con menor frecuencia de acame de raíz; características que se vieron reflejadas en mayor rendimiento.

Las asociaciones más notables se presentaron en los híbridos donde intervienen los grupos PE en combinación con E, y E *per se*, ya que manifiestan un buen comportamiento a través de las tres etapas de estudio.

En específico, destacan las combinaciones con un comportamiento general estable, reflejando superioridad en siete de las nueve variables; las cruza en cuestión fueron ExC y ExD; sin embargo, estos no fueron las más rendidoras, promedio de las dos localidades. Estos resultados son similares a los reportados por Hawkins y Cooper (1979) quienes mencionan que el buen

crecimiento en plántula en el periodo heterotrófico (vigor de plántula y acumulación de materia seca) desaparece antes de la floración masculina.

Por otra parte, los genotipos más rendidores tomando el promedio de las dos localidades fueron CxE y DxE, los cuales se diferencian de las cruzas recíprocas en 0.3 y 2 t ha⁻¹ respectivamente; estos genotipos presentaron superioridad sólo en cinco de las variables. Considerando que el rendimiento es el objetivo mayoritario en el mejoramiento del maíz, se puede asumir que estos genotipos son los de mejor respuesta a través de su ciclo de vida.

Cuadro 4.13. Valores promedio de atributos de plántulas en etapa juvenil y caracteres agronómicos en planta adulta.

GEN	NCC	LCC	NMX	NH	PSPA	PSR	FM (Días)		AR (%)		REND t*ha ⁻¹	
	(n)	(μm)	(n)	(n)	(g)	(g)	LOC 1	LOC 2	LOC 1	LOC 2	LOC 1	LOC 2
C	9.7	193.0	6.0	3.56	1.23*	0.69	90*	75*	11*	23*	10.8	6.3
CxD	9.0*	158.9	9.3*	3.56	1.27*	0.71*	90*	75*	10*	13	10.0	4.4
CxE	10.3*	181.2	6.3	4.10*	1.10	0.62	87	71	0	12	12.6*	9.5*
DxC	6.7	185.6	5.6	3.50	1.16	0.57	90*	70	13*	25*	11.5*	4.5
D	9.7	192.6	6.0	3.26	1.10	0.59	87	75*	5	8	7.4	6.8
DxE	11.0*	220.4*	6.0	4.10*	1.10	0.64	87	66	1	12	11.5*	11.8*
ExC	8.7	212.5*	6.3	4.03*	1.28*	0.74*	86	69	3	16*	11.8*	9.7*
ExD	8.3	231.8*	6.3	4.13*	1.52*	0.72*	86	67	1	9	10.8	8.8*
E	9.7	212.2*	5.3	4.06*	1.15	0.65	87	68	1	4	12.3*	9.6*
Media Gral.	9.2	198.7	6.4	3.8	1.2	0.7	87.7	70.1	4.8	13.6	11.0	8.0
ϵ	0.25	4.61	0.15	0.02	0.02	0.01	1.5	1.3	0.25	0.78	0.24	0.34

* = Mayor que $\mu + 2 \epsilon$, donde ϵ = Error estándar. NCC= Número de capas del córtex; LCC= Longitud de células del córtex; NMX= Número de metaxilemas; NH= Número de hojas; PSPA= Peso seco parte aérea; PSR= Peso seco de raíz; DFM= Días a floración masculina; AR= Acame de raíz; y REND= Rendimiento al 15.5% de humedad.

Para dar sustento al comportamiento diferencial de todos los genotipos en respuesta a las variables en plántula(s) con las de planta adulta, se realizó

un análisis de correlación de manera general incluyendo todos los genotipos y todas las variables de interés (Cuadro 4.14); la utilización de estos coeficientes puede ayudar a predecir la producción de híbridos sobresalientes con altos niveles de vigor de plántula.

Cuadro 4.14. Coeficientes de correlación entre caracteres de planta juvenil y caracteres agronómicos en planta adulta.

Variables		Variables agronómicas, planta adulta					
		FM (Días)		AR (%)		REND t*ha ⁻¹	
		LOC 1	LOC 2	LOC 1	LOC 2	LOC 1	LOC 2
Radícula	NCC (n)	0.00	-0.17	-0.34	-0.50	0.14	0.47
	LCC (µm)	-0.31	-0.28	-0.06	-0.06	0.00	0.33
	NMX (n)	0.31	0.20	0.25	0.11	-0.21	-0.41
Plántula	NH (n)	-0.52 **	-0.51 **	-0.38 *	-0.25 *	0.48 *	0.65 **
	PSR (g)	-0.12	-0.31	-0.23	-0.11	0.10	0.26
	PSPA (g)	-0.25	-0.14	0.06	0.03	-0.17	0.01

*, ** = Significativo al 0.05 y 0.01 de probabilidad.

Los bajos coeficientes y la ausencia de significancia en el grupo de variables en el estudio histológico de radícula de tres días con caracteres agronómicos de planta adulta, indican un comportamiento independiente, lo cual coincide con los resultados obtenidos al analizar los efectos genéticos (reportados en Cuadro 4.11).

Caso contrario, los coeficientes de correlación entre plántula de 21 días de edad con los caracteres agronómicos, fueron bajos pero significativos. Los coeficientes negativos obtenidos en la correlación entre NH, DFM, AR y los positivos de NH con REND, asumen que los genotipos con mayor número de hojas se correlacionan con precocidad, menor acame de raíz y mayor

rendimiento de mazorca. Estos resultados coinciden con los reportados por Mock y McNeil (1979) quienes obtuvieron coeficientes de correlación bajos pero significativos en número de hojas de planta juvenil, con días a floración femenina y rendimiento de mazorca en líneas de maíz.

A su vez, los resultados aquí obtenidos difieren de los reportados por Antuna *et al.* (2003) quienes no encontraron una asociación directa entre caracteres de planta adulta (altura de planta, días a floración y rendimiento) con caracteres de de calidad fisiológica de semillas (germinación e índice de vigor en plántula).

Los resultados aquí obtenidos indican que un buen establecimiento y desarrollo de plántula pueden ser un indicio confiable para predecir genotipos con potencial rendidor, características que influyen de manera directa en los caracteres agronómicos en la etapa final del cultivo.

V. CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo de investigación fueron derivados de la evaluación de nueve genotipos de maíz en tres etapas de desarrollo. Los genotipos provinieron de la aplicación de un diseño de apareamiento dialélico completo, a partir de tres poblaciones contrastantes.

1. Anatomía de radícula de tres días de edad

En la etapa, todos los genotipos exhibieron radícula después de la germinación. De manera relevante, solo las dos poblaciones PE y cruzas entre ellas exhibieron de dos a cuatro radículas por semilla germinada, mostrando un promedio general de 14%. Esto sugiere que el carácter está en función del tipo y origen de poliembrionía que exhiba la semilla que lo genera; por tanto, se asume la necesidad de las plántulas de formar radículas múltiples para abastecer de agua y nutrientes a un número variable de tallos presentes en aquellas. En el análisis histológico de radícula permitió detectar tres tipos de poliembrionía que ocurren en las poblaciones NAP y BAP y las cruzas entre ellas. Por otro lado, la caracterización anatómica de la radícula de los nueve genotipos, muestra que existen combinaciones híbridas sobresalientes en esta etapa de desarrollo.

2. Plántula de 21 días

Las plántulas de maíz de 21 días de edad alcanzaron diferentes estadios de desarrollo en función del genotipo. La expresión general de las plántulas osciló entre las etapas: emergencia y de tres a cuatro hojas (VE, V3 y V4). Se corroboró que los genotipos PE fueron los únicos en presentar tallos y radículas múltiples en el orden de 62 y 18% respectivamente. Por tal atribución, se mantiene la PE en las poblaciones como tales y se hereda de algún modo a las F₁ de la hibridación entre ellas; sin embargo, esta característica se oculta por completo en combinaciones con Tuxpeño, mostrándose como un carácter recesivo. La producción de materia seca radical solo representó el 60% del importe de MS en la parte aérea de los genotipos en general; por tal motivo, es notable señalar que la condición de dos radículas y número de tallos presentes por plántula en maíces PE, no les confirió ventaja aparente en esta etapa de desarrollo.

3. Ensayos de rendimiento

Los genotipos No-PE mostraron mejor comportamiento agronómico por arriba de los PE en las dos localidades de evaluación; esta condición se manifestó en precocidad (2 días), menor acame de raíz (15%) y por ende mayor rendimiento (4.5 t ha⁻¹). Entre los genotipos de mejores características se encontraron las cruzas CxE y DxE; representando así, una alternativa para

iniciar un programa de mejoramiento genético entre estos grupos germoplásmicos.

4. Parámetros genéticos

Los valores estimados para efectos genéticos evaluados se fueron incrementando en cada etapa de desarrollo. La expresión fenotípica de los progenitores y cruzas en las tres etapas de evaluación presentaron que la mayor proporción de variación en LCC, NH y para todas las variables de planta adulta fueron debidas a los efectos de acción aditiva; en tanto que para NCC, NMX, PSR y PSPA el componente principal en la expresión fue dada por los efectos recíprocos en el orden de 65% promedio. Los estimados de ACG y ACE no se presentaron de manera significativa en la primer etapa de desarrollo; de manera interesante, la PE tiene implicaciones atípicas en la estimación de estos parámetros genéticos incluyendo la heterosis. Por otro lado, la población E resultó el mejor genotipo para heredar características de plántula y características agronómicas por su valor de ACG aceptable; acelerando el desarrollo, reduciendo características indeseables como acame de raíz e impactando de manera positiva en el rendimiento en las dos localidades (0.92 y 1.8 t ha⁻¹). Los mejores híbridos con los mayores efectos de ACE fueron CXE y DxE, mismos que presentaron los mejores estimados de heterosis a través de las tres etapas de evaluación.

5. Análisis de correlación

La expresión fenotípica y de los efectos genéticos de los progenitores y cruza simple mostraron una asociación inconsistente entre las tres etapas de evaluación. El análisis de correlación indicó que sólo existe asociación entre caracteres de plántula de 21 días de edad con las variables de planta adulta, de modo que un buen establecimiento de plántula influye de manera determinante en el desarrollo del cultivo y verse impactado en mayor rendimiento.

VI. RESUMEN

Este trabajo de investigación propone el estudio de nueve genotipos de maíz evaluados en tres diferentes etapas de desarrollo: el primero corresponde a un estudio histológico de radícula de tres días post-germinación; el segundo aborda características de plántula a los 21 días de edad bajo condiciones de invernadero; y el tercero califica el comportamiento productivo de estos genotipos en dos localidades. Los nueve genotipos utilizados se describen como sigue: tres poblaciones de maíz con características especiales *i.e.* dos de ellas poseen alta frecuencia poliembriónica, denominadas NAP o C (Normal de alta poliembrionía) y BAP o D (braquítica de alta poliembrionía); la tercera población es No-PE, denominada Tuxpeño (E), entre sus principales características el alto contenido de aceite en semilla; los otros seis genotipos reintegran por las cruzas directas y recíprocas entre estas poblaciones, generadas de acuerdo al método I de los diseños dialélicos de Griffing (1956). La aplicación de este, permitió estimar parámetros genéticos como aptitud combinatoria general, específica, efectos recíprocos y heterosis. Para el primer experimento los genotipos se dispusieron en un diseño completamente al azar; en tanto, para los experimentos dos y tres correspondió a un diseño de bloques completos al azar.

El desarrollo del primer experimento permitió documentar que la frecuencia PE y de radículas múltiples se presentó en el orden de 60 y 14%

respectivamente; más esta característica se enmascara en híbridos F₁ con Tuxpeño, manifestándose de este modo la PE como un carácter recesivo. Las variables relativas al estudio histológico longitudinal transversal se vieron favorecidas por la hibridación entre genotipos PE y E. Los mejores genotipos en estas variables fueron los híbridos DxE y CxE; en tanto, para el número de metaxilemas, la combinación CxD resultó ser la más sobresaliente. En este estudio, se logró documentar al menos tres diferentes versiones en la formación de radículas múltiples individualizadas o con cierto grado de fusión exclusivos de genotipos PE.

En el estudio de plántula de 21 días de edad, se validó el fenómeno de radículas múltiples influido por la PE, observándose en proporciones de 7 a 18%; mientras que la frecuencia de la PE se presentó en el orden de 62%. La producción de materia seca radical sólo representó el 60% del aporte total de la parte aérea de los genotipos en general; por tal motivo la condición de dos radículas y número de tallos presentes por plántula en maíces PE, no confirió ventaja aparente en esta etapa de desarrollo.

El estudio de comportamiento productivo en plantas adultas permitió establecer que los genotipos No-PE mostraron mejor comportamiento agronómico, por arriba de los PE en las dos localidades de evaluación; estas características se vieron reflejadas en precocidad, menor acame de raíz y, por ende, mayor rendimiento de mazorca. Los genotipos de mayor respuesta en esta etapa de evaluación fueron CxE y DxE.

La estimación de parámetros genéticos en las tres etapas de estudio permiten señalar que los efectos genéticos de acción aditiva se presentaron sólo en la variable longitud de células corticales LCC (primer estudio), número de hojas NH (en segundo estudio), y para todas las variables agronómicas; en tanto, los efectos recíprocos se presentaron en número de células corticales NCC, número de metaxilemas (NMX), peso seco de raíz (PSR) y peso seco de parte aérea (PSPA). La población E resultó el mejor genotipo para heredar características en etapa de plántula y características agronómicas por sus valores de ACG. Los híbridos con los mayores estimados de ACE fueron CxE y DxE, mismos que presentaron los mejores estimados de heterosis en la mayoría de las características estudiadas en las tres etapas de evaluación. La correlación de caracteres estudiados en las tres etapas de desarrollo registró una correlación baja pero significativa en plántula de 21 días en cuanto a número de hojas (NH) con todas las variables agronómicas. Esto indica que un buen establecimiento de plántula influye de manera determinante en el desarrollo del cultivo, rendimiento incluido. Los genotipos CxE y DxE presentaron el mejor comportamiento a través de las tres etapas de evaluación.

VII. LITERATURA CITADA

- Abbe E. C., O. L. Stein, 1954. The origin of the shoot apex in maize: embryogeny. *American Journal of Botany*. 41: 285±293.
- Acevedo, E., T. C. Hsiao, and D. W. Henderson. 1971. Immediate and subsequent growth responses of maize leaves to changes in water status. *Plant Physiology*. 8: 631-636.
- Aiken R. M., A. J. Smucker, 1996. Root system regulation of whole plant growth. *Annual Reviews of Phytopathology* 34: 325±346.
- Ajala, S. O., and A. B. Fakorede, 1988. Inheritance of seedling vigor and its association with mature plant traits in maize populations at two levels of breeding. *Maydica* 33: 121-129.
- Alcalá, R. J., 2006. Caracterización morfológica de plántulas poliembriónicas de maíz en respuesta a sequía y toxina de *Fusarium moniliforme* (Sheld). Tesis Ingeniero Agrónomo en Horticultura. 56 p. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. División de Agronomía, Buenavista, Saltillo, México.
- Amos, B., and Walters, D. T. 2006. Maize root biomass and net rhizodeposited carbon: An analysis of the literature. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70: 1489-1503.
- Antuna-Grijalva O., F. Rincón, E. Gutiérrez Del R, N. A. Ruiz, y L. Bustamante G. 2003. Componentes genéticos de caracteres agronómicos y de calidad fisiológica de semillas en líneas de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 26(1): 11-17.
- Bais H. P., Weir , T. , Perry , L. G. , Gilroy , S. and Vivanco J. (2006) The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organsims . *Annu. Rev. Plant Biol* . 57 : 233 – 266.
- Bell J. K., and M. G. McCully 1970. A histological study of lateral root initiation and development in *Zea mays*. *Protoplasma* 70: 179–205
- Bernardo R. 2001. Breeding potential of intra- and interheterotic group crosses in maize. *Crop Sci*. 41:68-71.

- Birchler, J. A., D. L. Auger, C. Riddle N., 2003. In search of the molecular basis of heterosis. *Plant Cell* 15: 2236-2239.
- Bockstaller, C., and P. Girardin. 1994. Effects of seed size on maize growth from emergence to silking. *Maydica* 39: 213-218.
- Bruce, A. B., 1910. The Mendelian theory of heredity and the augmentation of vigor. *Science* 32: 627-628.
- Burow, M. D. and Coors, J. G. 1994. DIALLEL: A Microcomputer Program for the Simulation and Analysis of Diallel Crosses. Louisiana State Univ., Dep. of Botany, Baton Rouge, LA 70803.
- Cano R. P., Ramírez R. G., Ortegón P. J., Esparza M. J., y Rodríguez H. S. 2000. Análisis dialélico para vigor de semilla en melón. *Agrociencia* 34: 337-342.
- Castro, G. M. 1973. Maíces superenanos para el Bajío. Boletín técnico. Escuela Superior de Agricultura "Antonio Narro" de la Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Coahuila. México. 20 p.
- Castro, G. M. 1979. Estudio sobre herencia y valor nutritivo de semillas con doble embrión. *Avances de investigación en maíz, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. México. pp. 24-25.*
- Cervantes O. F., García de los Santos. G., Carballo C. A., Bergvinson D., Crossa J., Mendoza E. M., Moreno M. E. 2006. Análisis dialélico para caracteres de vigor de semilla y de plántula en genotipos de maíz tropical. *Agricultura Técnica de México* 32(1): 77-87.
- Clark, J. K., and Sheridan, W. F. Isolation and characterization of 51 embryo-specific mutations of maize. *Plant Cell*. 3: 935-951.
- Cockerham C. C. and B. S. Weir. 1977. Quadratic analyses of reciprocal crosses. *Biometric* 33: 187-203.
- Corey, L. A., Matzinger D. F., Cockerham C. C. 1976. Maternal and reciprocal effects on seedling characters in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Genetics* 82: 677-683.
- Dubrovsky, J., Ivanov, V. 1984. Certain mechanisms of lateral root initiation in germinating maize roots. *Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants, Kiev* 16: 279±284.

- Erdelska O., Vidovencova Z., 1993. Development of adventitious seminal root primordia during embryogenesis. *Biologia*, Bratislava 48: 85±88.
- Erdelska, O., 1996. Cleavage polyembryony *in vivo* and *in vitro*. *Acta Botanicorum Poloniae* TOM 65 (1-2) CTOP. 001123-00125.
- Esau, K. 1965. *Plant anatomy*, 2nd edn. New York: John Wiley and Sons.
- Espinoza, 2007. Libro Científico Anual de Agricultura, Ganadería y Ciencia Forestal. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Disponible en la página de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro: <http://www.uaaan.mx/>
- Espinoza, J., Musito, N., Sámano, D., Gonzáles V., Musito, A., Gallegos, J., 2006. Variantes en raíz de maíces poliembriónicos a nivel plántula. XXI Congreso Nacional y Primero Internacional de Fitogenética, del 3 al 8 de septiembre de 2006. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.
- Espinoza, J., Vega, C., Navarro, E., Burciaga, G., 1998. Poliembriónía en maíces de porte normal y enano. *Agronomía Mesoamericana* 9(2):83-88.
- Fakorede, M. A. B., and A. O. Ayoola. 1980. Relationship between seedling vigor and selection for yield improvement in maize. *Maydica* 25: 135-147.
- Fakorede, M. A. B., and S. B. Agbana. 1983. Heterosis effects and association of seedling vigor with mature plant characteristics and grain yield in some tropical maize cultivars. *Maydica* 38: 327-338.
- Feix, G., Hochholdinger, F., Park, W. J., 2002. Maize root system and genetic analysis of its formation. In: Waisel Y, Eshel A, Kafkafi U, eds. *Plant roots ± the hidden half*. New York: Marcel Dekker, 239±248.
- Feldman, L., 1994. The maize root. In: Freeling M, Walbot V, eds. *The maize handbook*. New York: Springer, 29±37.
- Frascaroli, E., Cane, M. A., Landi, P., Pea, G., Gianfranceschi, L., Villa, M., Morgante, M., Pe, M. E. 2007. Classical genetic and quantitative trait loci analyses of heterosis in a maize hybrid between two elite inbred lines. *Genetics* 176 (1) : 625 – 644 .
- Gardner, C. O., Eberhart, S. A., 1966. Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. *Biometrics*, 22: 439–452.

- Gómez M, N., R. B. Valdivia, y A. H. Mejía. 1988. Dialélico integrado con líneas de diferente programa de maíz para la región cálida. *Rev. Fitotec. Mex.* 11: 103-120.
- Griffing, B., 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Austr. J. Biol. Sci.*, 9, 463-493.
- Hallauer, A. R. and J. B. Miranda, F. 1988. *Quantitative genetics in maize breeding*. 2nd ed., Iowa State Univ. Press, Ames.
- Hallauer, A., Miranda, J., 1981. *Quantitative genetics in maize breeding*. Iowa State University Press Ames, Iowa, USA.
- Hawkins, R. C., and P. J. M. Cooper. 1979. Effects of seed size on growth and yield of maize in the Kenya highlands. *Exptal. Agric.* 15: 73-79.
- Henderson C., R. 1963. Selection index and expected genetic advance. In *statistical genetics and plant breeding*. NAS-NRC. Publication 982: 141-163.
- Hetz W., Hochholdinger, F., Schwall. M., Feix, G. 1996. Isolation and characterization of *rtcs* a mutant deficient in the formation of nodal roots. *Plant Journal* 10: 845±857.
- Hochholdinger, F., 2004b. Genetics of root formation in maize (*Zea mays* L.) Reveals Root – Type specific developmental programs.
- Hochholdinger, F., 2009. The maize root system: Morphology, Anatomy, and genetics. J. L. Bennetzen and S.C. Hake (eds.), *Handbook of maize: Its Biology*. Springer Science. 145-160.
- Hochholdinger, F., Feix, G., 1998. Early post-embryonic root formation is specifically affected in the maize mutant *lrt1*. *Plant Journal* 16: 247±255.
- Hochholdinger, F., Park, W. J., Feix, G., 2001. Cooperative action of *SLR1* and *SLR2* is required for lateral root specific cell-elongation in maize. *Plant Physiology* 125: 1529±1539.
- Hochholdinger, F., Park, W. J., Sauer, M., Woll, K., 2004a. From weeds to crops: genetic analysis of root development in cereals. *Trends in Plant Sciences*, 9: 42±48.
- Hochholdinger, F., Wen, T.J., Zimmermann, R., Chimot-Marolle, P., da Costa e Silva, O., Bruce, W., Lamkey, K.R., Wienand, U. and Schnable, P.S. (2008) The maize (*Zea mays* L.) *roothairless3* gene encodes a putative

- GPI-anchored, monocot-specific, COBRA-like protein that significantly affects grain yield. *Plant J.* 54: 888–898.
- Hoecker, N., Keller, N., B., Piepho H. P., Hochholdinger, F., 2006. Manifestation of heterosis during early maize (*Zea mays* L.) root development. *Theor. Appl. Genet.* 112:421-429.
- Hoppe, D. C., McCully, M. E., Wenzel, C. L., 1986. The nodal roots of *Zea*: their development in relation to structural features of the stem. *Canadian Journal of Botany* 64: 2524±2537.
- Hose, E., Clarkson, D. T., Steudle, E., Schreiber, L., Hartung, W., 2001. The exodermis: a variable apoplastic barrier. *Journal of Experimental Botany* 52: 2245±2264.
- Ishikawa, H., Evans, M. L., 1995. Specialized zones of development in roots. *Plant Physiology* 109: 725±727.
- Jenkins, M. T., 1930. Heritable characters of maize XXXIV-rootless. *Journal of Heredity* 21: 79±80.
- Jiang, K., Meng, Y. L., Feldman L. J., 2003. Quiescent center formation in maize roots is associated with an auxin-regulated oxidizing environment. *Development* 130: 1429±1438.
- Johansen, D. A., 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill. New York, USA.
- Jones, D. F., 1917. Dominance of linked factors as a means of accounting for heterosis. *Genetics* 2: 466-475.
- Kausch, W., 1967. Lebensdauer der Prima Èrwurzel von Monokotyledonen. *Naturwissenschaften* 54: 475.
- Kiesselbach, T. A., 1949. The structure and reproduction of corn. *Nebraska Agriculture Experiment Station Research Bulletin* 161: 3±96.
- Kozinka V. 1977. Primary seminal root, a permanent part of the root system of *Zea mays* L. *Biologia, Bratislava* 32: 779±786.
- Kusterer, B., Muminovic, J., Utz, H. F., Piepho, H. P., Barth, S., Heckenberger, M., Meyer, R. C., Altmann, T., Melchinger, A.E. 2007. Analysis of a triple testcross design with recombinant inbred lines reveals a significant role of epistasis in heterosis for biomass-related traits in *Arabidopsis*. *Genetics* 175 (4) : 2009 – 2017.

- Lakshmanan, K. K., Ambegaokar, K. B., 1984. Poliembryony, pp. 445-474. In: Embriology Angyosperms. JHORI, B. M. (ed.) Berlin: Springer-Verlag. New York. USA.
- Lamkey K. R., Edwards J. W. 1998. Heterosis: theory and estimation. In: Proceedings of 34th Illinois Corn Breeders' School, pp 62–77 Urbana, IL 2–3.
- Latournerie M. L., S. A. Rodríguez H., Córdova O., S. Castellanos y R. López. 1998. Aptitud combinatoria de líneas élite de maíz tropical y subtropical. In. P. Ramírez, V., F. Zabala G. N. O. Gómez M., F. Rincón S. y A. Mejía C. (eds). Memorias del XVII Congreso de Fitogenética: Notas científicas. SOMEFI. Chapingo, México. pp. 464.
- Lawson ,W. E, Hanway, J. J., 1977. Corn production. In: Sprague GF, ed. Corn and corn improvement. Madison: American Society of Agronomy Publishers, 625±669.
- Lynch, J., 1995. Root architecture and plant productivity. *Plant Physiology* 109: 7±13.
- Ludlow M. M. and R. C. Muchow, 1990. A critical evaluation of traits for improving crop yields in water limited environments. *Adv. in Agronomy* 43: 107-153.
- Mandelbrot, B. B., (1983): *The Fractal Geometry of Nature*. Freeman, New York.
- Márquez, S. F., 1998. Genotecnia vegetal. Tomo II. AGTESA. México. 563 p.
- Martin E. M., Harris W. M. 1976. Adventitious root development from the coleoptilar node in *Zea mays* L. *American Journal of Botany* 63:890±897.
- Martínez G. A. 1983. Diseños y Análisis Dialélicos de Experimentos de cruzas Dialélicas. Segunda Edición. Centro de estadística y Cálculo. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 252 p.
- McCully, M. E. 1999. Roots is soil: unearthing the complexities of roots and their rhizospheres. *Annual Reviews in Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50: 697±718.
- McCully, M. E., Canny, M. J., 1988. Pathways and processes of water and nutrient movements in roots. *Plant Soil* 111: 159±170.
- McCully, M.E., Canny, M. J., 1985. Localization of translocated ¹⁴C in roots and root exudates of field-grown maize. *Physiologia Plantarum* 65: 380±392.

- McPhee K (2005). Variation for seedling root architecture in the core collection of pea germplasm. *Crop Sci.* 45:1758-1763. Published on line, august 1, 2005.
- Melani, M. D. y Carena, M. J. 2005. Alternative maize heterotic pattern for the Northern corn belt. *Crop Science* 45: 2186-2194.
- Mock, J. J., and A. A. Bakri. 1976. Recurrent selection for cold tolerance in maize. *Crop Sci.* 16: 230-233.
- Mock, J. J., and M. J. McNeill. 1979. Cold tolerance of maize inbred lines adapted to various latitudes in North America. *Crop Sci.* 19: 239-242.
- Mock, J. J., and W. H. Skrdla. 1978. Evaluation of maize plant introductions for cold tolerance. *Euphytica* 27: 27-32.
- Morgan, D. T., Rappleye J. R., 1951. Polyembryony in maize and lily, following X-irradiation of the pollen. *J. Hered.* 42:91-93.
- Nielsen, R. L. 2001. Corn root development. Agronomy Dept., Purdue University. West Lafayette, IN 47907-1150.
- Pahlavanian, A. M., Silk, W. K., (1988). Effect of temperature on spatial and temporal aspects of growth in the primary maize root. *Plant Physiol.* 87, 529-532.
- Perissé, P. 2002. Semillas. Un Punto de Vista Agronómico. Primera Edición: Argentina. p: 185.
- Pesev, N., Petrovic, R., Zecevic, L. J., Milosevic, M. 1976. Study of possibility in raising maize inbred lines with two embryos. *Theor. Appl. Gen.* 47:197-201.
- Pilu, R. (2000). The twin trait maize. *Maize Gen. Coop. News.* 74:51.
- Puertas, G. M. 1992. Genética: Fundamentos y perspectivas. McGraw-Hill. España. 741 p.
- Revilla, P., Butron, A., Malval, R. A. and Ordás, A. 1999. Relationships among kernel weight, early vigor and growth in maize. *Crop Sci.* 39: 654-658.
- Reyes D, L., J. D. G Molina, M. A. R. Oropeza, y E. C. P. Moreno. 2004. Cruzas dialélicas entre líneas autofecundadas de maíz derivadas de la raza tuxpeño. *Rev. Fitotec. Mex.* 27(1): 49-56.

- Ritchie, S. W., Hanway, J. J., 1992. How a corn plant develops. Special report No. 48. Ames, IA, USA, Iowa State University.
- Rivera, F. H., 1977. Efecto de la diversidad genética de la heterosis de cruzamientos intervarietales de maíz. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 98 p.
- Rodríguez, H., S.; Castro, G. M. 1978. Estudio sobre herencia de semillas con dos embriones. Avances de investigación en maíz, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. México. p.19.
- Sámamo, D., 2007. Caracterización Genética de dos Grupos Germoplásmicos de Maíz y Comportamiento Agronómico del Patrón Heterótico. Tesis Maestro en Ciencias en Fitomejoramiento. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, México.
- Sass, J. E., 1977. Morphology. In: Sprague GF, ed. Corn and corn improvement. Madison: American Society of Agronomy Publishers, 89±110.
- Sedgley, M., Griffin, A. R., 1989. Sexual reproduction of tree crops. Academic Press Inc. London UK. 378 p.
- Sharman B. C. 1942. A twin seedling in *Zea mays* L. Twinning in the Gramineae. *Department of Botany, University of Leeds*.
- Shull, G. F., 1908. The composition of a field of maize. Rep. Am. Breed. Assoc. 5: 51-59.
- Sprague, G. F., 1936. Hybrid vigor and growth rates in a maize cross and its reciprocal. *J Agric Res* 53:819–830.
- Sprague, G. F., Tatum, L. A., 1942. General vs. specific combining ability in single crosses of cor. *J Amer. Soc. Agron.* 34: 923-932.
- Stuber, CW, Lincoln, S. E., Wolff D.W., Helentjaris T., Lander, E.S. 1992. Identification of genetic factors contributing to heterosis in a hybrid from two elite maize inbred lines using molecular markers. *Genetics* 132 (3): 823 – 839.
- Tillich, H. J., 1977. Vergleichend morphologische Untersuchungen zur Identität der Gramineen-Primärwurzel. *Flora* 166: 415±421.
- Tillich, H. J., 1992. Bauprinzipien und Evolutionslinien bei monokotylen Keimpflanzen. *Botanisches Jahrbuch der Systematik* 114: 91±132.

- Tuberosa, R., Salvi, S., 2006. From the QTLs genes controlling root traits in maize. *J.H.J. Spiertz, P.C. Struik and H.H. van Laar (eds.), Scale and Complexity in Plant Systems Research: Gene-Plant-Crop Relations*, 15-24.
- Uzarowska A., Keller B., Piepho H. P., Schwarz G., Ingvarlsen C., Wenzel G., Lubberstedt T. 2007. Comparative expression profiling in meristems of inbredhybrid triplets of maize based on morphological investigations of heterosis for plant height. *Plant Molecular Biology* 63: 21-34.
- Vasal, K. y Córdova, H., 1996. Heterosis en maíz: acelerando la tecnología de híbridos de dos progenitores para el mundo de desarrollo. In: López B. A., S. A. Rodríguez H. y G. Martínez. *Memorias del curso internacional de actualización en fitomejoramiento y agricultura sustentable*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 32-61 pp.
- Vernon, D. M. and Meinke, D. W. 1994. Embryogenic transformation of the suspensor in twin, a polyembryonic mutant of Arabidopsis. *Develop. Biol.* 165: 566-573.
- Villareal C. A. 2007. Relación de xenia y apomixis con la poliembrionía en maíz. Tesis de posgrado. Universidad Autónoma de Coahuila. Facultad de Ciencias Químicas. Saltillo, Coahuila.
- Wang, X. L., McCully, M. E., Canny M. J., 1994. The branch roots of Zea. IV. The maturation and openness of xylem conduits in first-order branches of soil-grown roots. *New Phytologist* 126: 21±29.
- Watt , M. , Silk , W.K. and Passioura , J.B . 2006. Rates of root and organism growth, soil conditions, and temporal and spatial development of the rhizosphere. *Ann. Bot.* 97 : 839 – 855 .
- Webber, J. M., 1940. Polyembryony. *Bol. Rev.* 6(11):575-598.
- Wen, T. J., Schnable, P. S., 1994. Analyses of mutants of three genes that influence root hair development in Zea mays (Gramineae) suggest that root hairs are dispensable. *American Journal of Botany* 81: 833±843.
- Woll, K., Hochholdinger, F., 2004. Isolation of a new root mutant rum1 affected in lateral and seminal root initiation. *Maize Genetics Cooperation Newsletter* 78: in press.
- Yamashita ,T., Ueno, C., 1992. Embryo- und Wurzelentwicklung bei Coix lacryma-jobi L. (Gramineae). *Flora* 187: 79±101.

Yamashita, T., 1991. Ist die Primärwurzel bei Samenpflanzen exogen oder endogen? Beiträge zur Biologie der Pflanzen 66: 371-391.

Yan W. and Hunt L. A. 2002. Biplot analysis of diallel data. Crop Sci. 42:21-31.

Zuber M. S. and Kang M. S. 1978. Corn lodging slowed by sturdier stalks. Crop Soil. 30: 13-15.

VIII. APÉNDICE

Cuadro A1. Cuadros Medios del análisis combinado para tres variables agronómicas de relevancia.

FV	gl	FM (días)	AR (%)	REND (tha-1)
LOC	1	4160.7 **	0.0249 **	121.02 **
Rep/LOC	4	14.44	0.0023	7.75
GEN	8	25.29 *	0.0039 **	18.47
ACG	2	71.34 **	0.0043 **	55.39
ACE	3	17.41	0.0007	7.99
REC	3	2.48	0.0069 **	4.34
MAT	2	3.03	0.0097 **	6.33
NMAT	1	1.37	0.0012	0.35
GEN*LOC	8	10.13	0.0007	7.75 *
ACG x LOC	2	6.90	0.0002	14.20 *
ACE x LOC	3	20.25	0.0013	9.38 *
REC x LOC	3	2.15	0.0004	1.81
MAT x LOC	2	2.53	0.0005	0.36
NMAT x LOC	1	1.39	0.0003	4.71
Error	32	9.11	0.0012	3.14
CV (%)		3.82	3.37	18.71
Media		79	9.24	9.46

*, ** = Significativo al 0.05 y 0.01 de probabilidad; ACG= Aptitud combinatoria general; ACE= Aptitud combinatoria específica; REC= Efectos recíprocos; MAT= Efectos maternos; NMAT= Efectos no maternos; CV= Coeficiente de variación; g.l. = Grados de libertad.

Cuadro A2. Concentración de medias y agrupamiento del análisis combinado para cuatro variables agronómicas de acuerdo a la prueba de Tukey con $\alpha=0.05$.

Genotipos	FM		AR		MP		REND	
	(días)		(%)		(%)		(t ha ⁻¹)	
C	82	a	16	ab	28	a	8.53	abc
CXD	81	ab	12	ab	25	ab	7.24	c
CXE	79	ab	6	ab	11	bc	11.07	ab
DXC	80	ab	19	a	18	abc	8.13	bc
D	81	ab	6	ab	25	ab	7.08	c
DXE	76	b	7	ab	11	bc	11.66	a
EXC	78	ab	9	ab	10	bc	10.73	ab
EXD	77	ab	5	ab	8	c	9.81	abc
E	78	ab	2	b	3	c	10.96	ab

Medias con la misma letra en la columna son estadísticamente iguales; FM= Floración masculina; AR= Acame de raíz; y REND= Rendimiento.

Cuadro A3. Concentración de medias y agrupamiento por localidad para tres variables agronómicas de acuerdo a la prueba de Tukey con $\alpha=0.05$.

Genotipos	FM		AR		REND	
	Loc 1	Loc 2	Loc 1	Loc 2	Loc 1	Loc 2
C	90 a	75 a	10 a	23 ab	10.8 a	6.3 bc
CXD	90 a	75 a	11 a	13 ab	10.0 ab	4.4 c
CXE	87 a	71 a	0 a	12 ab	12.6 a	9.5 abc
DXC	90 a	70 a	13 a	25 a	11.5 ab	4.5 bc
D	87 a	75 a	5 a	8 ab	7.4 b	6.8 abc
DXE	87 a	66 a	1 a	12 ab	11.5 ab	11.8 a
EXC	86 a	69 a	3 a	16 ab	11.8 ab	9.7 ab
EXD	86 a	67 a	1 a	9 ab	10.8 ab	8.8 abc
E	87 a	68 a	1 a	4 b	12.3 ab	9.6 abc
Media*	88a	70b	5b	14b	10.96a	7.96b

Medias con la misma letra en la columna o fila (*) son estadísticamente iguales; FM= Floración masculina; AR= Acame de raíz; y REND= Rendimiento.

MORFOLOGÍA Y ANATOMÍA DE RADÍCULAS MÚLTIPLES EN PLÁNTULAS DE MAÍZ DERIVADAS DE CARIOPSIS CON POLIEMBRIONÍA**José Espinoza-Velázquez¹, Jesús Valdés-Reyna² y José Manuel Alcalá-Rodríguez²**¹*Instituto Mexicano del Maíz “Dr. Mario E. Castro Gil” de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. CP 25315.*²*Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Correo electrónico: jespvel@uaaan.mx***RESUMEN**

Se presentan resultados relativos a la morfología y anatomía de radículas de maíz, así como de la frecuencia de plántulas y radículas múltiples por semilla germinada. Se utilizaron tres poblaciones y las seis cruza posibles entre ellas. De las poblaciones, una corresponde a maíz común (no-poliembriónico) y dos de alta frecuencia poliembriónica (PE). Se indujeron a germinación 24 semillas de cada uno de los nueve genotipos. La morfología y anatomía de radículas se estudió en plántulas de tres días de edad, pero la identificación fenotípica y cuantificación de poliembriónia y radículas múltiples se llevó a cabo hasta los 10 días en plántulas contemporáneas a las primeras. Se evaluaron seis variables anatómicas de la radícula, valoradas en cortes histológicos longitudinales y transversales; también se determinaron las proporciones de radículas múltiples y poliembriónia. Los resultados indicaron que los fenómenos PE y radículas múltiples se presentaron solamente en las progenies de las dos poblaciones poliembriónicas y los híbridos entre ellas; las plántulas que exhiben PE pueden o no presentar simultáneamente el fenómeno de radículas múltiples; éstas fueron observadas en número y conformación variables *i.e.* en casos de dos y hasta

cuatro raíces, separadas o con cierto grado de fusión a nivel histológico, incluyendo el cilindro vascular. El promedio de frecuencia de PE y de radículas múltiples fue de 62 y 14% respectivamente. Las características morfológicas y anatómicas de radícula con mayores atributos se observaron en algunas combinaciones híbridas entre genotipos PE x No-PE, lo cual pudiera significar una manifestación de heterosis, aprovechable agrónomicamente en la utilización de ellos con otros grupos germoplásmicos.

Palabras clave: *Zea mays* L., poliembriónia, radículas múltiples por semilla, anatomía de radícula.

ABSTRACT

Results related to maize seedlings anatomy and morphology as well as multiple seedlings and radicles per germinated seed are presented. Three populations and their six possible hybrids were used. Two populations are highly polyembryonic (PE) meanwhile the third represents a normal maize type (Non-Polyembryonic). 24 seeds from each genotype were induced to germination. The seedling's anatomy and morphology was studied in three days old seedlings, but the phenotypes and quantification of polyembryony and

multiple radicles were done in contemporary seedlings of 10 days of age. Six anatomical variables, valued through longitudinal and transversal histological cuts, were evaluated; also, the multiple radicles and polyembryony proportions were determined. Results indicated that the PE and multiple radicles phenomena were only present in progenies of polyembryonic populations and their respective hybrids. There were cases where polyembryony and multiple radicles were simultaneous in the same seedling; these radicles varied in number and conformation, *i.e.* cases of two to four seedlings which can be fully separated or sharing some anatomical parts, including the vascular cylinder. The average frequencies for PE and multiple radicles were 62 and 14% respectively. The better values for anatomical and morphological characteristics were shown by some hybrids among the PE x No-PE genotypes; this could mean a positive heterosis which could be agronomically useful in handling them with other germplasm sources.

Key words: *Zea mays* L., polyembryony, multiple radicles per seed, morphology, radicle anatomy.

INTRODUCCIÓN

La raíz es un órgano fundamental cuya función principal es la de anclar a la planta y la de absorber agua y minerales. Por lo tanto, un sistema radical sano es determinante en el desarrollo de todos sus órganos aéreos (Gould y Shaw, 1983; Tuberosa y Salvi, 2007). Esta razón ha sido suficiente para estudiar las características de la raíz como apoyo en la mejora genética de cultivos (Mc Phee, 2005) y en la investigación para el análisis genético de la formación

y desarrollo de la raíz (Hochholdinger, 2004; 2009).

La semilla del maíz común germina normalmente en una plántula, la cual presenta una radícula y una plúmula; sin embargo, se han detectado variantes naturales que alteran este patrón, provocando que sus semillas muestren de dos y hasta siete plúmulas de manera simultánea a la germinación (Espinoza *et al.*, 1998); algunos de estos casos pueden mostrar también más de una radícula (Espinoza, V.J., datos sin publicar); estas condiciones son indicadores de la presencia de poliembrionía (PE) en este tipo de maíz, la cual ha demostrado ser de naturaleza heredable (Rebolloza *et al.*, 2011).

La poliembrionía, presente en varios taxa de angiospermas y gimnospermas, tiene como consecuencia principal la producción de plúmulas múltiples y ha sido considerada una característica de valor agronómico (Webber, 1940; Ross y Wilson, 1969; Pesev *et al.*, 1976; Bouquet, 1980; Nunez y Ocoy, 2008). En el proceso de germinación, el maíz común invierte normalmente todo su endosperma en el desarrollo de una sola plántula, mientras que los casos de cariopsis de naturaleza PE, de tamaño equivalente a la primera, debe invertir las reservas del endosperma en el desarrollo de dos o más plántulas.

Existe abundante información sobre desarrollo de la raíz en el maíz común (Hochholdinger *et al.*, 2004); el sistema radical se inicia con la aparición de la radícula y continúa con la expresión de raíces seminales laterales, en número variable; el crecimiento y desarrollo de éstas ocurre dentro de los cinco días a la siembra y

cesa cuando la plántula alcanza el estado vegetativo de tres hojas (V3), de acuerdo a la terminología mundialmente aceptada de Ritchie *et al.* (1992), tiempo en que se extienden las raíces definitivas, denominadas “nodulares” o de corona, generadas a partir de los nudos basales en el tallo, las cuales se hacen aparentes desde la etapa V1 (Hochholdinger, 2004; 2009).

La anatomía de la radícula y raíces laterales en maíz muestran la organización típica de las monocotiledóneas (haces vasculares dispersos). El arreglo histológico comprende la epidermis, número variable de capas del córtex (de ocho a 15), endodermis, periciclo y un cilindro vascular con varios haces vasculares y floemas (Gould y Shaw, 1983). La organización longitudinal de este grupo de raíces es descrita en términos de zonas especializadas de desarrollo, y generalmente incluye la cofia, meristemo apical, zona de alargamiento distal, zona de alargamiento celular y zona de maduración, la cual está determinada por la formación de pelos radicales (Ishikawa y Evans, 1995; Hochholdinger, 2004; 2009).

Por otra parte, en la actualidad no se cuenta con información sobre desarrollo de radícula(s) en plántulas PE. En este contexto se presenta aquí un estudio anatómico de radícula(s) a los de tres días de edad y se corrobora la presencia de dos o más radículas por semilla y su consecuencia a nivel anatómico, en dos poblaciones experimentales de alta frecuencia poliembriónica, denominadas C o UA-IMM-NAP (de porte normal) y D o UA-IMM-BAP (porte enano), generadas en el Instituto Mexicano del Maíz “Dr. Mario E. Castro Gil” de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (IMM-UAAAN),

bajo la hipótesis de que la PE está asociada a procesos especiales en el desarrollo del sistema radical seminal.

MATERIAL Y MÉTODO

Los estudios de morfología y anatomía de radícula se llevaron a cabo en el laboratorio de Anatomía e Histología Vegetal, Departamento de Botánica, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, sede en Saltillo, Coahuila, México (UAAAN). El material genético fueron nueve genotipos, producto de cruza directa y recíprocas de tres poblaciones de maíz, denominadas C y D (desarrolladas en el IMM-UAAAN) y la E o Tuxpeño-HO, muestra otorgada por el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). Las poblaciones poliembriónicas C y D son materiales del tipo maíz mexicano, semientado, de grano blanco, mientras que la población No-PE es un material de la raza tuxpeño, especializada en alto contenido de aceite en el grano. Los cruzamientos se llevaron a cabo siguiendo el método I de Griffing (1956), cuyos genotipos fueron, además de las tres poblaciones paternas (C, D y E), tres cruza directa (CxD; CxE; y DxE) y tres recíprocas (DxC; ExC; y ExD). De sus progenies, se obtuvieron dos muestras aleatorias de 24 semillas, las cuales se hicieron germinar en rollos de papel germinador (tacos de germinación), dispuestas en un horno a $28 \pm 2^\circ\text{C}$ por tres días; radículas de esta edad fueron la base para los estudios de morfología.

Dos secciones de radícula de 2.5 cm de longitud fueron obtenidas después de 2 cm de la base de la semilla, en dirección al ápice radicular; el procedimiento se practicó en tres especímenes en cada uno de los nueve

genotipos. Las radículas fueron colocadas en fijador FAA por 45 días; los tejidos ya fijados se sometieron a proceso de deshidratación y luego a inclusión en parafina, siguiendo la metodología de Johansen (1940) y Aguilar *et al.* (1996). El siguiente paso fue realizar los cortes transversales o longitudinales de radícula con el micrótopo rotatorio American Optical 820. La coloración se realizó con safranina *fast-green*. El grosor de los cortes fue de 16 μm . Para el análisis detallado de las imágenes se utilizó el software Axio Vision 4.7 de Carl Zeiss.

Una vez obtenidos los especímenes de radícula de tres días para los estudios anatómicos, se dejó que el resto de las plántulas siguieran su desarrollo en los tacos de germinación hasta alcanzar 10 días de edad, tiempo suficiente para apreciar y cuantificar el número de plúmulas y radículas por semilla germinada, en cada uno de los nueve genotipos. Las variables de estudio fueron: frecuencia de poliembrionía (FPE), longitud de radícula en cm (LR), número de radículas múltiples y su frecuencia (NRM; FRM). Las variables en cortes longitudinales de radícula(s) fueron: número de primordios de radícula (NPR), longitud de células corticales (LCC), capas del córtex (NCC), diámetro de radícula (DR), y número de haces vasculares (NHV). La longitud de radícula (LR) se tomó como referencia para analizar las tendencias de desarrollo de las características longitudinales, *i.e.* número de primordios radiculares (NPR) y la longitud de células del córtex (LCC), mientras que la variable diámetro de radícula (DR) fue la referente para analizar las tendencias de desarrollo de características transversales, *i.e.* número de capas corticales (NCC) y número de haces vasculares (NHV).

Análisis estadístico. Se utilizó un diseño completamente al azar, tres repeticiones; tres especímenes por genotipo. El modelo estadístico fue $Y_{ij} = \mu + t_i + \varepsilon_{ij}$; donde Y_{ij} representa la ij -ésima observación de cualquier variable, μ es la media general del experimento, t_i representa el i -ésimo genotipo, y ε_{ij} representa el ij -ésimo error experimental (Snedecor y Cochran, 1980).

RESULTADOS

Poliembrionía (PE)

Los valores de las variables obtenidos para plántulas a los 10 días de edad se presentan en el cuadro 1. Aquí, los nueve genotipos fueron agrupados como sigue: grupo PE (genotipos C y D), grupo PE x PE (cruzas directas y recíprocas entre C y D), grupo No-PE (tuxpeño, E), y grupo PE x No-PE (cruzas directas y recíprocas de E con C y D).

Se observó poliembrionía sólo en las poblaciones C y D, y las cruzas entre ellas (cuadro 1). La característica (FPE) fue cuantificada en el tiempo mínimo necesario para identificar fácil y claramente la condición de dos o más plántulas por semilla. En estos casos, la PE se presentó en frecuencias altas (superior a 60%); sin embargo, y de acuerdo a lo esperado, el carácter no se expresó en las F1 provenientes de cruzamientos entre genotipos PE x No-PE, ya que se ha demostrado que la PE es un carácter recesivo.

La variable frecuencia de radículas múltiples (FRM) del sistema radical seminal es también un fenómeno extraordinario en maíz, y se presentó sólo en genotipos PE y los cruzamientos entre ellos, en

Cuadro 1. Valores promedio y desviación estándar de las tres primeras variables fenológicas de los genotipos poliembriónicos y normales.

Agrupación de genotipos	PG (%)	FPE (%)	FRM (%)
PE	99±2	64±10	16±3
PE x PE	97±3	63±6	12±6
No-PE	97±5	0	0
PE x No-PE	99±2	0	0

PE = poblaciones C y D; PE x PE = cruzas directas y recíprocas entre C y D; No-PE = Tuxpeño; PE x No-PE = cruzas directas y recíprocas entre C, D con E; PG = por ciento de germinación; FPE = frecuencia Poliembriónica.

FRM = frecuencia de radículas múltiples.

proporción promedio de 14%, valor inferior a la FPE; es decir, no todas las semillas que exhiben plúmulas múltiples pueden presentar también radículas múltiples. Una explicación al respecto es la condición de penetrancia incompleta del carácter PE (Rebolloza *et al.*, 2011).

Morfología y anatomía de radícula(s)

Las variables relativas a la morfología y anatomía de radícula(s) de tres días de edad se consignan en el cuadro 2. La longitud promedio de las radículas fue de 8.7 cm; se encontró un incremento en esta variable en las combinaciones híbridas PE x E, las cuales presentaron un promedio de 9.2 cm, mientras que los genotipos PE tuvieron un promedio inferior (8.2 cm) a la media general y el que corresponde al genotipo E. De manera similar, la variable LCC presentó sus valores máximos en la hibridación de E con genotipos PE (promedió de 211 μ m), condición superior a los valores que exhibieron los genotipos PE (promedio, 183 μ m). La correlación de LR con NPR ($r = 0.26$)

y LCC ($r = 0.16$) fueron positivas, bajas y no significativas; es decir, que una mayor longitud de la radícula no se traduce en mayor cantidad de primordios radiculares, ni en una mayor longitud de las células del córtex. Es notable que el NPR promedio en los genotipos PE sea el más bajo, mientras que los que fueron observados en E y sus cruzas como polinizador de madres PE, resultaron significativamente más altos.

Los primordios radiculares iniciaron su desarrollo a los tres días de edad (Fig. 1A) y no presentaron diferencias significativas entre genotipos. No obstante, la mayor densidad de los mismos fue registrada en híbridos entre E y los PE, tanto en cruzas directas como recíprocas; el promedio de éstos fue 11 primordios en 5 cm de radícula, valor superior a los que exhibieron los materiales PE como tales.

El DR (diámetro de radícula) no se correlacionó con NCC ($r = 0.04$) es decir, que el genotipo con mayor diámetro no presentó el número de estratos del córtex. La

Cuadro 2. Valores promedio y coeficiente de correlación de variables medidas en cortes histológicos en radículas de maíz de tres días.

Genotipo	LR (cm)	NPR	LCC (μ m)	DR (mm)	NCC	NMX
C	7.7	7.3	193.0	1.16	9.7	6.0
CxD	9.6	6.8	158.9	1.35	9.0	9.3
CxE	9.0	14.3	181.2	1.04	10.3	6.3
DxC	7.5	5.3	185.6	0.98	6.7	5.6
D	8.1	6.3	192.6	1.39	9.7	6.0
DxE	9.2	13.0	220.4	1.11	11.0	6.0
ExC	8.9	6.7	212.5	1.22	8.7	6.3
ExD	9.6	8.3	231.8	1.19	8.3	6.3
E	8.4	15.7	212.2	1.00	9.7	5.3
r		0.26	0.16	0.24	0.04	0.62*
Media	8.7	9.3	198.7	1.2	9.2	6.3
Desv Est	0.7	4.4	23.2	0.3	1.3	0.8

LR = longitud de radícula; NPR = número de primordios radiculares; LCC = longitud de células corticales; DR = diámetro de radícula; NCC = número de capas corticales; NMX = número de metaxilemas y r = coeficiente de correlación.

asociación de DR con NHV fue positiva y significativa ($r=0.62$, $P \leq 0.05$) resaltando la asociación entre estas dos variables, aunque el DR, por sí solo, no presentó diferencias entre genotipos.

El análisis de varianza (cuadro 3) presentó diferencias estadísticas entre genotipos ($P \leq 0.05$) sólo en las variables LCC, NCC y NHV; la comparación de medias (Tukey, $\alpha = 0.05$) exhibió que el genotipo DxE fue el más alto para la variable LCC que CxD presentó valores nominales altos para LR. No obstante que este híbrido ocupó el último lugar en LCC (Figs. 1D, 2a). En cuanto a NCC, las combinaciones más sobresalientes fueron DxE y CxE (Fig. 2b).

Por otra parte, es razonable suponer que el NCC se correlacione positivamente con DR, aunque en este estudio, los genotipos de mayor número de estratos del córtex, no presentaron el mayor diámetro de radícula. Por último, para NHV la combinación CxD presentó la mayor cantidad de estas estructuras (Fig. 2c), incluso muy superior a genotipos de su misma condición PE.

Es relevante señalar que en esta etapa de desarrollo del sistema radical seminal, los genotipos de maíz PE mostraron diferentes tipos en la formación de radículas múltiples, los cuales se presentaron como independientes entre sí, o con cierto grado de fusión (Fig. 3A). Entre las variantes de

Cuadro 3. Cuadrados medios y significancia de variables relevantes en cortes histológicos en radícula de tres días de edad.

FV	gl	LCC (µm)	NCC	NMX
Genotipo	8	12199.8 *	38 *	32.3 **
Error	16	9673.7	28.7	12.0
CV %		11.6	13.6	12.8
Media		198.7	9.2	6.4

*, ** = significativo al 0.05 y 0.01 de probabilidad; gl = grados de libertad; CV = coeficiente de variación; NCC = número de capas de cortex; LCC = longitud de células corticales y NMX = número de metaxilemas.

radículas múltiples observadas fue posible documentar los casos siguientes: 1) dos radículas independientes, que se mostraron completamente normales; 2) dos radículas que comparten tejido cortical, pero cilindro vascular independiente; 3) dos radículas que compartían tanto el tejido cortical como el cilindro vascular. Es importante subrayar que estas tres variantes de radícula múltiple observadas corresponden a casos generados a partir de una semilla (Fig. 3D). En contra parte, los maíces comunes (E o sus cruza con C y D) desarrollaron invariablemente sólo una radícula por semilla, anatómicamente normal (Figs. 3E, F).

DISCUSIÓN

La PE tiene implicaciones en el desarrollo inicial de la plántula; aquí, es destacable que sólo casos de genotipos PE presentaron plúmulas y radículas múltiples, lo cual puede considerarse como extraordinario, ya que el maíz común desarrolla invariablemente una de cada una de estas estructuras a la

germinación. Además, dadas las frecuencias de las dos características, se puede plantear que la PE en los genotipos C y D presentan más de un tipo o versión del carácter, como las señaladas por Erdelska (1996) quien a partir de análisis histológicos establece que la poliembrionía en maíz se da en función del origen y la localización de los embriones en la semilla, y que los tipos probables son, 1) embriones gemelos provenientes de sacos embrionarios múltiples que pueden localizarse en lados opuestos o a distancia en la semilla, que no comparten tejido alguno y germinan por separado; 2) gemelos o tripletes que provienen de células individuales del aparato ovocélula, que pueden estar íntimamente unidos pero separados por capas epidérmicas, que comparten endosperma, pero poseen plúmulas y radículas por separado; y 3) poliembrionía por *cleavage* (multiplicación de embriones a partir de una célula fecundada), originada de manera espontánea o inducida, que comparten un suspensor común, parte del escutelo y capas superficiales de la radícula; por ello,

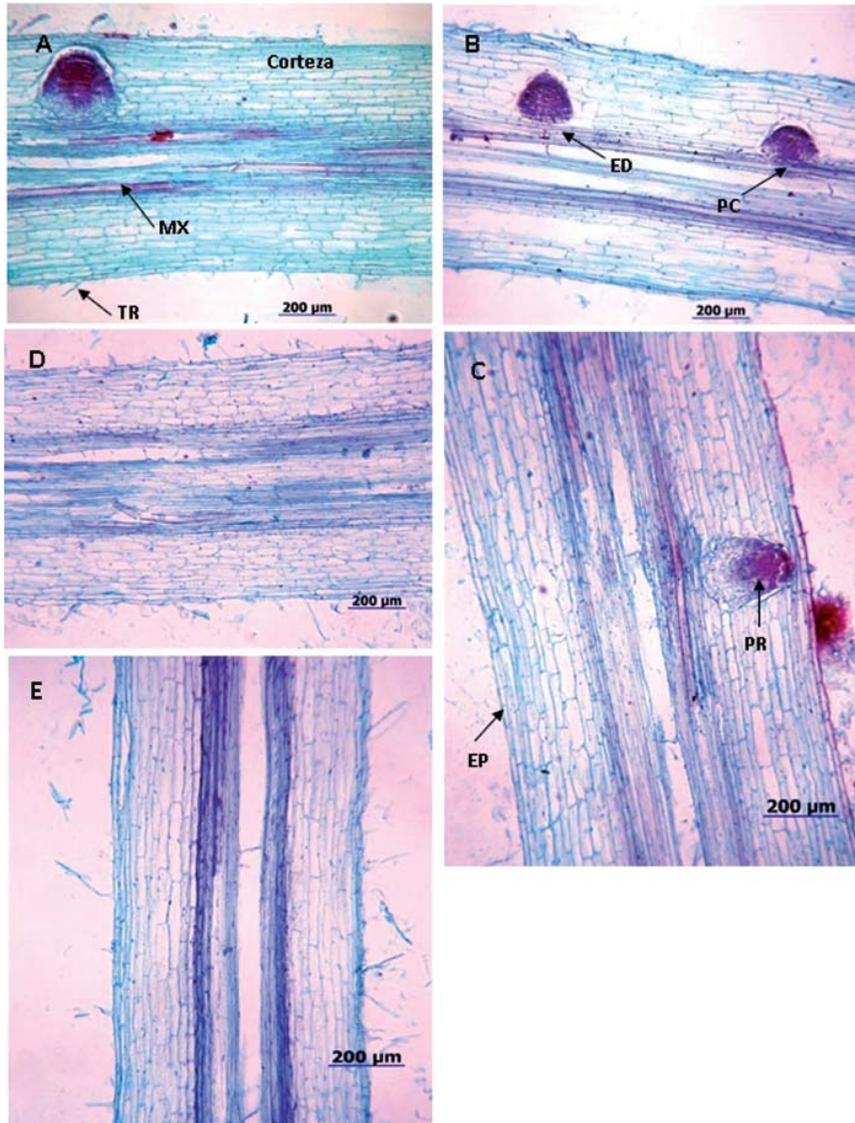


Fig. 1. Sección longitudinal de radícula a tres días de edad. (A) Presencia de primordios de raíz lateral, metaxilemas y tricomas, genotipo DxE; (B) Formación de primordios de raíz desde el periciclo y endodermis, genotipo E; (C) penetración del primordio de raíz en tejido cortical, genotipo CxE; (D y E) Expansión longitudinal de células corticales en el híbrido CxD y población D. PR = primordio de raíz; MX = haces vasculares (metaxilema); EP = epidermis; TR= tricomas (pelos radicales); ED = endodermis; PC = periciclo. Genotipos señalados en literales mayúscula.

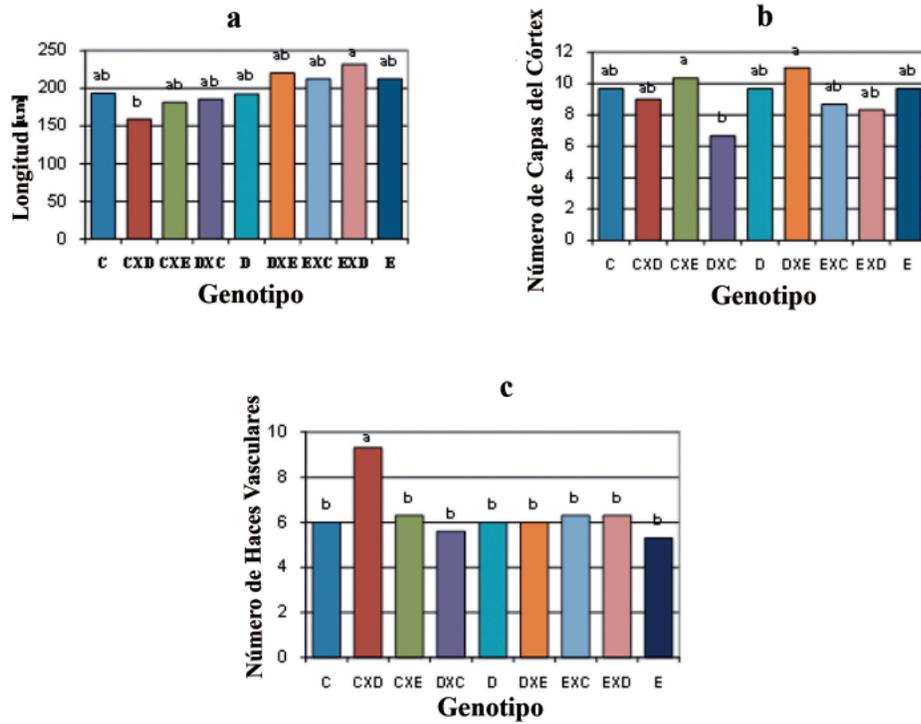


Fig. 2. Variables que mostraron diferencias estadísticas entre genotipos (Tukey $\alpha = 0.5$); medias con la misma letra son estadísticamente similares. a. Longitud de células corticales (LCC), b. Número de capas del córtex (NCC), c. Número de haces vasculares (NHV).

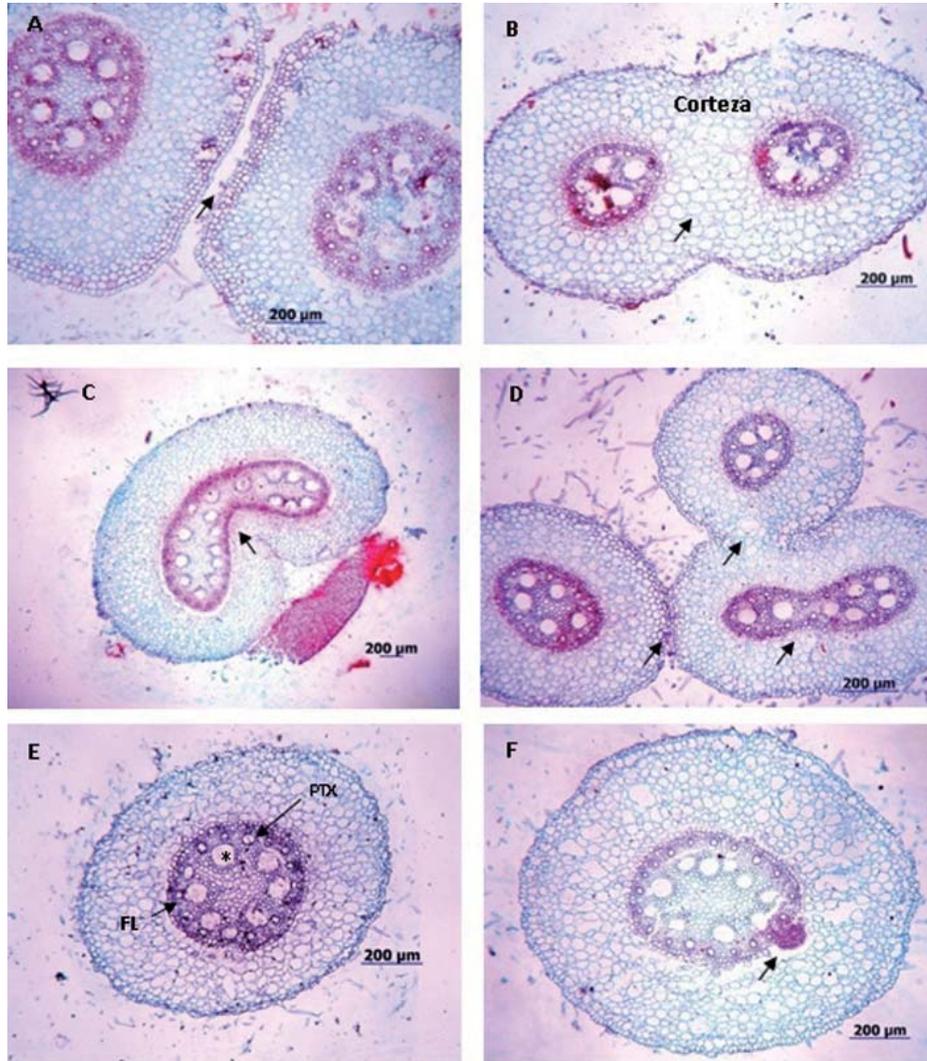


Fig. 3. Sección transversal de radícula a tres días de edad. (A) Radícula doble con estructuras independientes, genotipo D; (B) Radícula doble fusionada compartiendo tejido cortical, genotipo Dx C; (C) Radícula doble fusionada compartiendo tejido cortical y cilindro vascular, genotipo CxD; (D) Radícula cuádruple, tres de ellas fusionadas y una separada por tejido epidérmico, genotipo D; (E) Cilindro vascular normal con haces vasculares(*), protoxilemas (PTX) y floemas (FL), genotipo Dx E; (F) Radícula normal con desarrollo inicial de primordio de raíz lateral, genotipo CxE.

germinan con sólo un complejo radicular pero con plúmulas por separado.

De acuerdo con lo anterior, la PE de los maíces C, D y sus cruza, son mayormente del tipo (3), notable por ser casos de plúmulas múltiples y radícula única; la FRM en ellas se presentó en una proporción menor de casos PE, ya que el promedio de FRM fue de 14% mientras que la FPE fue de 63%, lo que pudiera indicar que cerca del 80% de éstos son tipo *cleavage*. Las proporciones de PE encontradas en este trabajo son prácticamente iguales a las señaladas por Espinoza *et al.* (1998).

Es oportuno señalar que el tamaño de las semillas PE es similar a los No-PE utilizadas en este trabajo (promedio de 280 mg \pm 25); en los genotipos PE, la presencia de dos o más embriones en las semillas pudiera significar una disminución de tamaño del endosperma y, por lo tanto, una reducción en el volumen de reserva de nutrimentos; de ser así, se presentaría un menor volumen de nutrimentos a la germinación para abastecer los requerimientos de más de una plántula por semilla; probablemente, los casos de radículas múltiples pudieran ayudar a superar esta desventaja, aumentando la capacidad de absorción de agua y minerales en las primeras etapas de desarrollo de las plántulas.

Los resultados permitieron corroborar la presencia exclusiva de PE en las poblaciones C, D y cruza entre ellas; también, que esta característica, en cruzamientos que generan a F1 con materiales normales (No-PE) se manifiesta como un carácter recesivo. Al respecto, la PE ha sido interpretada como un fenómeno gobernado por genes simples mendelianos, o como un carácter cuantitativo. Entre los primeros, está el reporte de

Pilu (2000), y como carácter cuantitativo se tiene el registro de Espinoza *et al.* (1998); sin embargo, debido al comportamiento inconsistente en la fijación de la PE, Rebolloza *et al.* (2011) presentan una revisión de la genética del carácter, y proponen que la herencia de la PE corresponde a un fenómeno de interacción génica entre dos loci, del tipo epistasis doble recesiva, con penetrancia incompleta en la expresión del carácter.

Morfología y anatomía de radícula(s)

Los resultados permitieron corroborar que la radícula en maíz se hace visible como estructura morfológica al tercer día de la germinación; la radícula acompañada de raíces laterales seminales representan la mayor proporción de la plántula en las primeras dos semanas de desarrollo y es el sistema proveedor de agua y nutrientes a la plántula en esta etapa; lo anterior, de acuerdo a lo reportado por Hochholdinger (2004; 2006; 2009).

La LR a esta edad alcanzó una media general de aproximadamente 9 cm; la mayor longitud fue alcanzada por las combinaciones híbridas de genotipos PE con E, mientras que los primeros tuvieron promedio menor a la media general y por debajo de E. Sin embargo, hay que hacer notar que en los casos de genotipos PE de radículas múltiples (dos a cuatro por semilla, presente en 14% de los casos) se consignó el promedio de longitud de las radículas y no la suma de ellas; esto, con el propósito de hacerlas comparables a las radículas simples. Por otra parte, la longitud de la radícula no fue un indicativo determinante para las variables longitudinales NPR y LCC. La falta de asociación de LR con NPR y LCC significó que la densidad de primordios

observados en la radícula, ni la longitud de células del córtex se incrementaran por la mayor longitud de radícula. Se pudo corroborar que los primordios radicales son formados desde el periciclo y a veces de la endodermis, datos en concordancia con lo mencionado por Drubrovsky e Ivanov (1984), y que inician su desarrollo a los tres días, resultados similares a los reportados por Hoecker *et al.* (2006), quienes mencionan que las raíces laterales de radícula en maíz inician su desarrollo aproximadamente a los cuatro días y se hacen visibles al quinto día.

La mayor cantidad de primordios fue observada en híbridos resultantes entre genotipos PE con E, en cualquier sentido de cruce. Al comparar datos de radículas de genotipos sólo PE se debe tomar en cuenta que la semilla genera dos o más plúmulas y/o radículas al germinar; esto implica un gasto energético mayor, a partir del mismo monto o menos de las reservas nutrimentales que portan las semillas normales; éstas hacen gasto para una sola plántula y un solo sistema radical seminal; de esta manera, es comprensible que en esta etapa de desarrollo, la semilla con embrión múltiple al germinar reduzca de algún modo la velocidad de sus procesos de desarrollo.

La radícula y los primordios de ésta, una vez emergidos, poseen la capacidad de formar raíces secundarias, terciarias y de más alto orden; éstas contribuyen a la densidad y arquitectura de la raíz, lo cual fortalece el anclaje temprano y la absorción de agua y nutrientes (Lynch, 1995; Hochholdinger y Feix, 1998; Hochholdinger, 2004; 2009). De esta comprensión del sistema radical seminal, se puede suponer que el aparente retraso en el desarrollo de plántula en geno-

tipos PE pudiera afectar, de algún modo, el establecimiento de la plántula en las etapas muy juveniles.

El sistema radical seminal (radícula y las raíces laterales), es suficiente para formar una planta madura y fértil; esto fue demostrado por la acción del mutante monogénico recesivo *rctc* que limita la aparición de las raíces laterales seminales y nodulares (Hetz *et al.*, 1996). En este sentido, es posible y recomendable seleccionar genotipos PE con aptitud para desarrollar, a mayor velocidad, un mejor sistema radical seminal.

Desde el punto de vista transversal el DR influyó positivamente la aparición de un mayor número de haces vasculares (NHV) en algunos genotipos, como el caso del híbrido CxD, el cual mostró valores mayores en esta variable, influenciado mayormente por la condición de dos radículas unidas, que comparten tejidos en su estructura anatómica. Por otra parte, el hecho de que el DR no haya presentado diferencias entre genotipos pudiera significar la poca efectividad de la característica en el desarrollo de raíz en esta etapa, porque de tenerlo DR estaría correlacionada con el incremento en volumen de la radícula. Estudios previos han encontrado que es la longitud y no el diámetro de radícula lo que potencia el desarrollo de plántula, ya que una mayor elongación de la radícula logra incrementar de manera eficiente la superficie exploratoria y la absorción de las raíces (Hoecker *et al.*, 2006).

Las células del córtex forman uno de los tejidos que componen en mayor parte la radícula en maíz (Hochholdinger, 2004; 2009); se sabe también que la LCC es el mayor factor de la elongación de la radícula (Hoecker *et al.*, 2006). En este trabajo, la

LCC fue mayor en la hibridación entre genotipos PE con E. No queda plenamente claro si esta mayor longitud en los híbridos influye positivamente en cuanto a longitud de radícula. Esto se aprecia en la cruce CxD, que es del tipo PE, la cual se presenta entre los promedios más altos para LR, pero es el genotipo de menor valor en cuanto a LCC; esta condición nos sugiere que la LR pudiera estar asociada también al número de células contenidas en este órgano.

El número de capas del córtex (NCC) fue alta en las combinaciones híbridas PE x E. Esta respuesta parece tener una relación genética al combinar germoplasma contrastante donde la fuente materna es de naturaleza PE. Por otra parte, es razonable que NCC correlacione positivamente con el DR. En este estudio los genotipos con mayor NCC no presentaron el mayor DR. De cualquier modo, el número de capas del córtex observados en los especímenes analizados están dentro de la amplitud conocida (8-15 estratos celulares) como se informa por Hochholdinger (2004; 2009).

Dentro del cilindro vascular de la radícula, los haces vasculares tienen la capacidad de transportar agua y nutrientes (Hochholdinger, 2004; 2009). Los resultados en este trabajo permiten señalar que la combinación CxD sobresale con la mayor cantidad de estas estructuras, incluso muy superior a los genotipos de su misma condición PE. Esta situación no puede ser atribuida a alguna clase de heterosis, ya que sus progenitores comparten un mismo origen genético y su mayor diferencia se refiere al porte de planta (enana *vs.* normal); por lo tanto, la expresión superior puede estar influida por su condición PE, ya que en los tres especímenes analizados presentaron

radículas dobles fusionadas en tejido vascular. En contraparte, las muestras de sus similares (C, D y DxC) sólo mostraron un caso de esta particularidad en sus radículas.

Destacable y novedoso en esta etapa de desarrollo de los genotipos PE de maíz fue la expresión de diferentes versiones de radículas múltiples, separadas o con cierto grado de fusión, exclusivas de genotipos PE. En este contexto, Erdelska (1996) menciona dos de tres tipos de PE en maíz que describen el fenómeno; una de ellas corresponden a ovocélulas que están cercanamente adheridas pero separadas estrictamente por el tejido epidérmico con radículas independientes; la otra manifiesta un suspensor común, en el cual se comparten capas superficiales de la radícula, sin embargo, este autor no hace mención de la fusión de tejidos vasculares, como el que se documenta en este trabajo, que agrega un dato al concepto de tejidos compartidos en la producción de radículas múltiples en maíz.

CONCLUSIONES

La poliembrionía en maíces IMM-UAAAN, poblaciones C, D y cruces entre ellas, es un carácter que influye de manera notable en el desarrollo del sistema radical seminal obligando, en proporción importante, a la emisión de dos y hasta cuatro radículas, las cuales pueden emerger de manera separada o unidas en una especie de cableado, que comparten varios tejidos, incluso parte del cilindro vascular. La hibridación con material genéticamente distante (No-PE) genera progenies que no presentan PE ni casos de radículas múltiples, significando que el carácter que los influye (la PE) es de naturaleza recesiva; en general, el

desarrollo del sistema radical seminal en la etapa de tres días de edad, es más rápido en los genotipos no-poliembriónicos, probablemente por que en las semillas PE reparten sus recursos nutrimentales en la emisión de dos o más plúmulas.

AGRADECIMIENTOS

Al personal del Laboratorio de Histología Vegetal del Departamento de Botánica de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por apoyar los trabajos de esta investigación.

LITERATURA CITADA

- Aguilar M.M. y B. Coutino B., 1996. *Manual General de Técnicas Histológicas y Citoquímicas*. Coordinación de Servicios Editoriales, Facultad de Ciencias. UNAM. México, DF, 130 p.
- Bouquet, A., 1980. "Effect of some genetic and environmental factor son spontaneous polyembryony in grapes (*Vitis vinifera* L.)". *Vitus*, **19**(2): 134-150.
- Dubrovsky, J. y Ivanov, V., 1984. "Certain mechanisms of lateral root initiation in germinating maize roots". *Phys. Biochem. Cultivated Plants, Kiev*, **16**: 279-284.
- Erdelska, O., 1996. "Polyembryony in maize-histological analysis". *Acta Soc. Bot. Poloniae* vol. **65**(1-2) CTOP. 001123-00125.
- Espinoza, J., Vega, C., Navarro, E. y Burciaga, G., 1998. "Poliembriónía en maíces de porte normal y enano". *Agron. Mesoam.*, **9**(2):83-88.
- Espinoza V., J., L. Valdéz L., V. M. González V., N. Musito R., J.E. Gallegos S., J. Sánchez L., A. Villarreal C., J.M. y Alcalá R., 2008. "Estudios Genéticos sobre la Poliembriónía en Maíz". En: *Libro Científico Anual de Agricultura, Ganadería y Ciencia Forestal*. ISBN 978-968-844-059-9. Dirección de Investigación, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Gould, F.W. y R.B. Shaw. 1983. *Grass Systematics*. 2nd. ed. College Station, Texas A & M Univ. Press., 397 pp.
- Griffing, B., 1956. "Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems". *Aus. J. Bio. Sci.*, **9**: 463-493.
- Hetz, W., Hochholdinger, F., Schwall. M. y Feix, G., 1996. "Isolation and characterization of rtes a mutant deficient in the formation of nodal roots". *Plant J.*, **10**: 845-857.
- Hochholdinger, F. y Feix, G., 1998. "Early post-embryonic root formation is specifically affected in the maize mutant lrt1". *Plant J.*, **16**: 247-255.
- Hochholdinger, F., 2004. Genetics of root formation in maize (*Zea mays* L.) "Reveals Root-Type specific developmental programs". *Ann. Bot.*, **93**: 359-368.
- Hochholdinger, F., 2006. "Research interest: Genetic analysis of root formation in maize (*Zea mays*)". Available in <http://www.uni-tuebingen.de/genetics/hochh/hochh.htm>. Accessed 25. January 2007.

- Hochholdinger, F., 2009. "The maize root system: Morphology, Anatomy, and genetics". J.L. Bennetzen and S.C. Hake (eds.), *Handbook of maize: Its Biology*. Springer Science, 145-160.
- Hoecker, N., Keller, N., B., Piepho H. P., Hochholdinger, F., 2006. "Manifestation of heterosis during early maize (*Zea mays* L.) root development". *Theor. Appl. Genet.*, **112**: 421-429.
- Ishikawa, H. y Evans, M.L., 1995. "Specialized zones of development in roots". *Pl. Physiol.*, **109**: 725-727.
- Johansen, D.A., 1940. *Plant Microtechniques*. McGraw-Hill. New York, USA.
- Lynch, J., 1995. "Root architecture and plant productivity". *Pl. Physiol.*, **109**: 7-13.
- McPhee, K., 2005. "Variation for seedling root architecture in the core collection of pea germplasm". *Crop Sci.*, **45**: 1758-1763.
- Nunez, T.C. y E.T. Ocoy, 2008. "Polyembryony in makapuno (*Cocos nucifera* L.) hybrids". *Phillipine Jour. Crop Sci.*, 122-123.
- Pesev, N., R. Petrovic, Lj. Zecevic y M. Milosevic, 1976. "Study of possibility in raising maize inbred lines with two embryos". *Theor. Appl. Genet.*, **47**: 74-51.
- Pilu, R., 2000. "The twin trait maize". *Maize Gen. Coop. News*, **74**: 51.
- Rebolloza, H.H., J. Espinoza V., D. Sámano G. y V. M. Zamora V., 2011. "Herencia de la poliembriónia en dos poblaciones experimentales de maíz". *Rev. Fitotec. Mex.*, **34**(1): 27-33.
- Ritchie, S.W. y Hanway, J.J., 1992. *How a corn plant develops*. Special report No. 48. Iowa State University. Ames, IA, USA.
- Ross, W.M. y J.A. Wilson, 1969. "Polyembryony in sorghum". *Crop Sci.*, **9**: 842-843.
- Snedecor, G.W. y W.G. Cochran. 1980. *Statistical Methods*. The Iowa State University Press. Ames, Ia. USA.
- Tuberosa, R. y Salvi, S., 2007. "Form the QTLs genes controlling root traits in maize". J.H.J. Spiertz, P.C. Struik and H.H. van Laar (eds.), *Scale and Complexity in Plant Systems Research: Gene-Plant-Crop Relations*, 15-24.
- Webber, J.M., 1940. "Polyembryony". *Bot. Rev.*, **VI**(11): 575-598.

Recibido: 12 enero 2011. Aceptado: 17 octubre 2011.