

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Desarrollo de una Metodología para la Recuperación de Genotipos
Poliembriónicos Segregantes en Maíz

Por:

ERIC DÍAZ HERNÁNDEZ

Tesis

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México.
Junio de 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Desarrollo de una Metodología para la Recuperación de Genotipos
Poliembríonicos Segregantes en Maíz

Por:

ERIC DÍAZ HERNÁNDEZ

Tesis

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada

Dr. José Espinoza Velázquez
Asesor Principal

M.C. Arnoldo Oyervides García
Coasesor

Ing. Alejandro Arredondo Osorio
Coasesor

Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México.
Junio de 2013

AGRADECIMIENTOS

A Dios, que ha guiado mis pasos y que ha sido una luz en mi camino, dándome la oportunidad de vivir y conocer personas de gran corazón, con las que he compartido vivencias de aprendizaje y momentos de mucha felicidad, que me impulsan a seguir dando lo mejor de mí día a día.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por permitirme realizar mis estudios de licenciatura, cobijándome y dándome una formación propia, siendo un orgullo y una gran satisfacción para mí, logrando uno de mis sueños más anhelados, agradezco a todos mis maestros, compañeros y trabajadores de la institución por todo su apoyo en este pasaje de mi vida.

Al Dr. José Espinoza Velásquez y a su esposa Doña Rosario, por su, apoyo incondicional, motivación, amistad, confianza, permitiéndome pasar momentos muy agradables.

Al Ing. Manuel Ángel Burciaga Vera y familia, por sus enseñanzas y conocimientos, amistad y por brindarme su apoyo incondicional en momentos un poco difíciles al inicio de mi carrera muchas gracias.

A los maestros del Departamento de Fitomejoramiento, en especial, Dr. Armando, MC. Alejandra Torres Tapia, a mí tutor MC. Daniel Sámano Garduño, por sus enseñanzas, trato, por su apoyo incondicional y su amistad, muchas gracias.

A los trabajadores de campo, Don Rogelio Burciaga y Don Jesús Zavala, por su amistad y gran apoyo, enseñanzas y colaboración en la realización de este trabajo de tesis.

A mis Paisanos MC. Rosalía, Ing. Javier, Ing. Efraín, Ing. Salvador, Ing. Margarito, Ing. Gerardo, Ing. Erik Ramón, Ing. Miguel, MC. Eva, en general a compañeros de postgrado, a Ing. Silvia e Ing. Rodo, compañeros de internado Blas, Sixto, Francisco, Gustavo, Eduardo, Luis, hermanos Arizpe, Erik, Elías, Alfonso, Benhur, al Dr. Víctor G., MC. Hermes R., MC. José Manuel A., MC. Marcelino A, Ing. Agustín D, Ing. Martin, compañeros de servicio social, Rolando, Alex, Lupe, Samuel, América, Daniel y Jovani, así como a mi amiga Anita R., a todos ustedes gracias, por brindarme su amistad, motivación, compañerismo y apoyo en algún momento de mi carrera.

A mis compañeros de generación CXII, a Guillermo Hernández, Ana Karen Cárdenas, A todos ustedes gracias por su apoyo y compañerismo en las buenas y en las malas.

A todos aquellos que me apoyaron voluntariamente en actividades relacionadas a este trabajo de tesis, a quienes ahora además considero mis amigos, que por supuesto jamás olvidare.

Al Dr. Mari E. Vázquez Vadillo y Ing. Rafael Jiménez por apoyarme y brindarme la oportunidad de realizar mí semestre de campo en la empresa Dow Agro Sciences México, en Sayula Jal., siendo para mí una valiosa y gran experiencia, para desarrollarme y desempeñarme de la mejor manera en el campo laboral.

A la familia Estrada Trujillo a Don Miguel, Doña Margarita, a sus hijos, Margarita, Gina, y Miguel, gracias por brindarme el calor de una familia y su apoyo incondicional en mi estancia en el semestre de campo.

A mí comité Particular de Asesoría:

Al Dr. José Espinoza Velázquez por darme la oportunidad de trabajar con usted, su paciencia y asesoramiento para la realización de esta tesis, por su confianza, apoyo incondicional, sus enseñanzas y principalmente su amistad, muchas gracias.

M.C. Arnoldo Oyervides García, Por su apoyo incondicional sus conocimientos sus enseñanzas para la elaboración de este trabajo de tesis gracias por formar parte de mi comité.

Ing. Alejandro Arredondo Osorio, gracias por brindarme sus instalaciones de trabajo para realizar una etapa de esta tesis, por transmitirme parte de sus conocimientos que me serán de gran utilidad, por todo su apoyo, colaboración y por formar parte de mi comité.

Ing. Gustavo A. Burciaga Vera, por la confianza y brindarme su apoyo, así como sus enseñanzas y por formar parte de mi comité.

Al Instituto Mexicano del Maíz “Dr. Mario E. Castro Gil” (IMM), al Ing. Gustavo Burciaga Vera, Jefe en curso, y a todo el personal que labora en el, por su confianza, disponibilidad, y apoyo en actividades relacionadas a este trabajo de tesis para todos ustedes gracias.

A todos ustedes “Mi más profundo agradecimiento”

DEDICATORIA

A mis padres Mario Díaz Chávez y María Isabel Hernández Blancas, hermanos Ariana Guadalupe, Mario Esteban, Josué Jovan, María Isabel y José Alan, por su amor, cariño, educación, motivación, consejos y apoyo incondicional, a mí cuñado (as), Manuel, Masiel y Sandra, por su amistad y apoyo, así como a mis adoradas sobrinas Dana Elizabeth, Alondra y para el que próximamente conoceremos.

A mis tíos, Catita, Juanita, Rodrigo, Ángel, Cristina, Juanito, Gumersindo, Adrián, Leova, Victoria, Fernando, Antonio, a mis primos en especial a Juana L, María G, Juan L. y a su esposa Sarita, en general a todos, por sus consejos brindados, motivación y su gran apoyo.

A mis abuelos José Díaz y Félix Chávez, Guadalupe Hernández y Lucia Blancas, A mis abuelos que conocí Lucia y José, gracias por su cariño, cuidado, consejos y regaños cuando se requería y a los que ahora no se encuentran con nosotros.

Es un orgullo y una gran alegría ser parte de esta gran familia.

A todos ustedes “los quiero mucho y gracias por creer en mí”

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE CUADROS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
RESUMEN	xii
Palabras clave:	xv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivos	5
Hipótesis	6
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
Origen del maíz	7
Importancia del maíz	7
Maíces de especialidad	9
Origen y herencia de la poliembrionía en maíz	11
III. MATERIALES Y MÉTODOS	14
Etapa Uno. Experimentos en pilas hidroiónicas (hidroponia) y campo, segregantes(Exóticos × BAP) F ₂	14
Material genético.....	14
Experimento en pilas hidroiónicas.....	15
Diseño experimental.....	16
Establecimiento en campo.....	17
Etapa Dos. Experimentos en invernadero y campo, segregantes (Exóticos × NAP) F ₂	19
Material genético.....	19
Experimento en invernadero.....	19
Diseño experimental.....	20
Experimento en campo.....	21
Etapa Tres. Experimento en invernadero, de los genotipos derivados de dialélicos al cruzar genotipos (Exóticos × BAP) F ₂ y (Exóticos × NAP) F ₂	23
Material genético del dialélico para F ₂ (Exóticos × BAP).	23
Diseño experimental.....	23

Manejo del establecimiento.	23
Material genético del dialélico para F ₂ (Exóticos × NAP).	25
Diseño experimental.	25
Manejo del establecimiento.	25
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
Etapa Uno. Experimento en pilas hidroiónicas y campo, segregantes de (Exóticos × BAP) F ₂	27
Etapa Dos. Experimentos en invernadero y campo, segregantes de (Exóticos × NAP) F ₂	31
Etapa Tres. Experimentos en invernadero aplicado a progenies derivadas de cruzamientos dialélicos por los genotipos segregantes (Exóticos × BAP) F ₂ y (Exóticos × NAP) F ₂	36
Mediciones en plántula.....	43
V. CONCLUSIONES.....	49
VI. LITERATURA CITADA	51
Citas de internet.....	54

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 3. 1. Genotipos de maíz, segregantes de (Exóticos x BAP) F ₂	15
Cuadro 3. 2 Genotipos de maíz, segregantes de (Exóticos x NAP) F ₂	19
Cuadro 3. 3. Genotipos del dialélico generado con materiales (Exóticos x BAP) F ₂	23
Cuadro 3. 4. Genotipos del dialélico generado con materiales (Exóticos x NAP) F ₂ .	25
Cuadro 4. 1. Promedios en plántulas segregantes de cruzas (Exóticos x BAP) F ₂	28
Cuadro 4. 2. Prueba de bondad de ajuste segregantes de (Exóticos x BAP) F ₂ .	30
Cuadro 4. 3. ANVA de germinación en segregantes (Exóticos x BAP) F ₂	30
Cuadro 4. 4. Promedios de plántulas en segregantes (Exóticos x NAP) F ₂	31
Cuadro 4. 5. Prueba de bondad de ajuste segregantes (Exóticos x NAP) F ₂	32
Cuadro 4. 6. Resumen de análisis de varianza segregantes (Exóticos x NAP) F ₂ .	34
Cuadro 4. 7. Promedios cosecha segregantes (Exóticos x NAP) F ₂	36
Cuadro 4. 8. Análisis de varianza en cosecha segregantes (Exóticos x NAP) F ₂	36
Cuadro 4. 9. Valores promedio de progenies resultantes de cruzamientos dialélicos entre genotipos F ₂ , derivados de las cruzas originales (Exóticos x BAP).....	38
Cuadro 4. 10. Valores promedio de progenies resultantes de cruzamientos dialélicos entre genotipos F ₂ , derivados de las cruzas originales (Exóticos x NAP).	39
Cuadro 4. 11. ANVA para los cruzamientos dialélicos del grupo segregantes de (Exóticos x BAP) F ₂	42
Cuadro 4. 12. ANVA para los cruzamientos dialélicos del grupo segregantes de (Exóticos x NAP) F ₂ .	43
Cuadro 4. 13. Medidas de plántulas de naturaleza PE, de cruzas dialélicas del grupo BAP.	44

Cuadro 4. 14. Medidas de plántulas de naturaleza individual, de cruzas dialélicas del grupo BAP.	45
Cuadro 4. 15. Medidas de plántulas de naturaleza PE, de cruzas dialélicas del grupo NAP.	46
Cuadro 4. 16. Medidas de plántulas de naturaleza individual, de cruzas dialélicas del grupo NAP.	46
Cuadro 4. 17. Análisis de varianza de los genotipos, cruzas dialélicas, del grupo BAP, incluyendo las dos versiones: PE e Individuales.	47
Cuadro 4. 18. Análisis de varianza de los genotipos, cruzas dialélicas, del grupo NAP, incluyendo las dos versiones: PE e Individuales.	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3. 1 Establecimiento del experimento en pilas hidroiónicas. 3.1.a) estructura de las pilas, 3.1. b) siembra en conos de papel absorbente, soporte de rejillas de acero, 3.1.c) Pilas que exhiben el lote sembrado y protegido con malla-gallinero, 3.1.d) Pilas cubiertas de manera temporal con lonas protectoras de lluvia-granizo, 3.1.e) Establecimiento del experimento, disposición del diseño, inicio de la emergencia de plántulas.....	17
Figura 3. 2. Establecimiento en campo. 3.2.a) Plántulas PE seleccionadas para el trasplanta a los 21 días de edad. 3.2.b) Haciendo pozos para facilitar el trasplante, 3.2.c) Introduciendo plántulas en pozos 3.2.d) Cubriendo parte radical con tierra, 3.2.e) Exhibición de lote y acomodo de cintilla, 3.2.f) Grafico del método de control en campo.	18
Figura 3. 3. Establecimiento en invernadero. 3.3.a) Exhibición y distribución general. 3.3.b), 3.3.c) y 3.3.d) materiales experimentales para germinación.	21
Figura 3. 4. Establecimiento en campo. 3.4.a) Plántula PE seleccionadas. 3.4.b) Distribución de los genotipos. 3.4.c) Aplicación de fertilizante al suelo. 3.4.d) Aplicación de riego después de trasplante 3.4.e) Exhibición del establecimiento.	22
Figura 3. 5. Establecimiento en invernadero. 3.5.a) Emergencia de plántulas en cajas de germinación a los 5 días después de la siembra. 3.5.b) Sistema de riego 3.5.c) Panorama general a los 10 días 3.5.d) Exhibición de plántulas PE con buena conformación 3.5.e) Exhibición de plántulas con varios casos de anormalidades.	24
Figura 3. 6. Establecimiento en invernadero. 3.6.a) Distribución de las cajas de germinación 3.6.b) Aplicación de riego 3.6.c) Plántulas a los 10 días	26
Figura 4. 1. Planta PE mostrando prolificidad.	35

RESUMEN

El maíz es el cultivo agrícola más importante en México, básico en la alimentación humana y en animales zootécnicos, y uno de los cereales de mayor importancia a nivel mundial por sus aplicaciones en la producción de alimentos y aplicaciones industriales. En general, el grano entero de maíz comercial contiene 12% de agua, 9% proteína, 3.4% grasa, 73.5% hidratos de carbono (mayormente almidón), 1% fibra, y 1% cenizas (Paliwal *et al.*, 2001). Estas cualidades nutritivas, así como su alta capacidad productiva y versatilidad, hacen del maíz un cereal de primera importancia a nivel mundial, y se le ubica como una fuente mayor de energía bruta y digestible, utilizable en varias formas de procesos industriales e. g. alimentos balanceados para animales, almidones, plásticos, aceites, etanol, féculas, en otras.

Una característica especial del maíz es el fenómeno poliembrionía (PE), siendo una variante mutante natural que implica modificación en su genoma, lo cual influye en la morfología de semilla-planta, implicado en la formación de varios embriones por semilla que pudieran desarrollarse en plantas completas, teniendo el potencial de carácter productivo obteniendo mayor número de mazorcas desarrolladas a partir de una semilla post-siembra, así como incrementar la producción de materia seca por semilla y por unidad de superficie. El que un grano de maíz contenga dos ó más embriones confiere mayores contenidos de

aceites y proteína de calidad, haciendo que el grano tenga mayor calidad nutrimental.

Actualmente el Instituto Mexicano del Maíz “Dr. Mario E. Castro Gil” de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (IMM-UAAAN) ha generado dos poblaciones con frecuencia PE denominadas IMM-UAAAN-BAP (Enana PE) e IMM-UAAAN-NAP (Porte normal PE). Con base a estudios de análisis genéticos realizados en estas dos poblaciones se establece un modelo de herencia simple, por la vía de interacción génica epistática doble recesiva del tipo 15:1 en segregación F_2 , además el carácter presenta penetrancia incompleta.

Teniendo en cuenta lo anterior y contando, con poblaciones sometidas a selección en el tema de la PE, este trabajo se realizó con los siguientes objetivos:

- 1) Uniformizar fenotípicamente los genotipos empleados en este experimento;
- 2) Constitución de nuevas variedades de maíz que conjuguen mejoría en rendimiento y calidad nutrimental;
- 3) Incrementar la producción de materia seca por semilla y por unidad de superficie;
- 4) Reducir cantidad de semillas por unidad de superficie reduciendo costos de producción.

El material genético utilizado incluyó germoplasma de las poblaciones IMM-UAAAN-BAP e IMM-UAAAN-NAP, en diferentes combinaciones germoplásmicas al cruzarlas con diversas fuentes de materiales exóticos. La investigación se desarrolló en tres etapas, como sigue: 1) Evaluación de grupos segregantes de exóticos \times BAP en plántulas de 14 d, plántulas del tipo PE de estos grupos fueron trasplantadas en campo y con ellas se desarrolló un diseño dialélico de

apareamiento preferencial entre todos los genotipos, 2) Evaluación de grupos segregantes de exóticos × NAP en plántulas de 14 d, Procediendo de manera similar a la descrita en etapa (1), para generar los cruzamientos dialélicos, 3) Evaluación a nivel de plántula, 14 d de las progenies resultantes de los cruzamientos dialélicos de los grupos BAP y NAP.

Los experimentos de las Etapas 1 y 2 se establecieron en un diseño de bloques completos al azar, 5 y 4 repeticiones respectivamente. El tamaño de parcela en el experimento Etapa 1 fue de 180 semillas y en el de Etapa 2 fue de 240 semillas. Los materiales de la etapa 3 se dispusieron en un diseño completamente al azar, tres repeticiones, con el tamaño de parcela de 50 semillas. Las proporciones de segregación de Normal: PE se probaron a través de pruebas de Ji cuadrada, bajo la hipótesis de 15:1. Algunas variables, de las diferentes Etapas se analizaron a través de un ANOVA, y prueba de Tukey, $\alpha = 0.05$, cuando así procedió.

Las variables de respuesta, en general, fueron: Por ciento de germinación, PE, plántulas anormales, número de hojas, coleoptilos, radículas, y raíces de corona. Las en planta adulta (Etapa 2) las variables fueron: Rendimiento de mazorca, mala cobertura, acames de raíz y tallo.

Los resultados permitieron corroborar el patrón de herencia de la PE controlada por dos loci en interacción epistática doble recesiva (15:1) asociada al fenómeno de penetrancia incompleta. El ensayo de rendimiento de los genotipos adultos (Etapa 2) mostraron capacidades productivas aprovechables en

volúmenes de al menos 11 t ha⁻¹ en mazorca al 15% de humedad. El apareamiento preferencial practicado en cruzamientos de sólo plantas PE permitieron en lo general duplicar y hasta quintuplicar la frecuencia de plántulas poliembriónicas.

Con base a los resultados de este trabajo es posible señalar una metodología para derivar fuentes germoplásmicas diversas que incluyan a la PE con propósitos de generar variedades especializadas de maíz, con buen potencial de producción y calidad nutrimental. El método incluye combinación de germoplasma exóticos con genotipos PE, desarrollar la F₂ y la F₃ y a partir de estas generar por la vía de apareamiento preferencial positivo con base en plantas PE, constituir los diversos grupos germoplásmicos a utilizar en un programa de mejoramiento hacia rendimiento y calidad nutrimental de maíces poliembriónicos.

Palabras clave: *Zea mays* L., plántulas, poliembrionía, método de recuperación de la poliembrionía.

I. INTRODUCCIÓN

Aspecto clave en la independencia alimentaria de México es la suficiencia en la producción de maíz. Durante el periodo Otoño-Invierno 2010/11, la producción de maíz se vio reducida a causa de la sequía que afectó al cultivo mayormente en Sinaloa, principal productor del grano en la actualidad. De acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP-SAGARPA, México) durante el año agrícola 2011 se sembraron 7.77 millones de hectáreas de maíz, sin embargo sólo fue cosechado el 77.5% de dicha área, el restante 22.5 fue reportado como siniestro total.

Los rendimientos promedios de maíz por unidad de superficie durante el difícil año 2011 para agricultura de temporal (70.7% de superficie cosechada) fueron de 2.01 t ha^{-2} , siendo el más bajo desde 2001. Los correspondientes a agricultura de riego (29.3% del total) fueron de 6.19 t ha^{-2} , por lo que, la producción general promedio ponderado nacional fue de 2.86 t ha^{-2} . De acuerdo con FIRA (2012), analizando datos del SIAP-SAGARPA (2011), la producción nacional de maíz para 2011 fue de 17.14 millones de toneladas, que es el volumen más bajo en el último decenio, generando un déficit mayor del cereal, suplido con importaciones. De cualquier modo, los estados más productores ese año fueron Sinaloa (16.8% del total), Jalisco (14.2%), Chiapas (8.5%), Michoacán (7.95%), Guerrero (7.4%), Veracruz y Guanajuato, con el mismo por ciento (5.8%).

Las importaciones de maíz en México para el año 2011 fueron de 9.6 millones de toneladas, con un valor medio de 290.3 dólares por tonelada, y un consumo aparente de 26.8 millones de toneladas de maíz a nivel nacional. Dadas estas circunstancias, aunque México es centro de origen y uno de los principales consumidores de este grano, no es autosuficiente. Por esta razón, es muy necesario establecer nuevas políticas que generen estrategias para buscar niveles de producción hacia la autosuficiencia y seguridad alimentaria. Una opción a esta estrategia es el mejoramiento genético del cultivo, para crear nuevas variedades de maíz que, adecuadas a cada región, sobresalgan tanto en rendimiento como en calidad nutrimental, que contribuyan a la autosuficiencia, e incluso permitan excedentes para concurrir al mercado mundial de granos como exportadores.

Otro aspecto importante en el tema maíz es la calidad nutrimental del grano. En general, el grano entero de maíz comercial contiene en promedio 12% de agua, 9% proteína, 3.4% grasa, 73.5% hidratos de carbono (mayormente almidón), 1% fibra, y 1% cenizas (Paliwal *et al.*, 2001). Estas cualidades nutricias, así como su alta capacidad productiva, hacen del maíz un cereal de primera importancia a nivel mundial, y se le ubica como una fuente mayor de energía bruta y digestible, utilizable en varias formas de procesos industriales *e. g.* alimentos balanceados para animales, harinas, masa y tortilla, almidones, plásticos, medios y pigmentos en la industria farmacéutica y cosmética, aceites, etanol, féculas, pegamentos, entre otros productos.

En México, varios países de América y algunos de África, los maíces adaptados en sus regiones son ingredientes base en la alimentación humana y

una fuente importante de energía, aunque pobres en calidad proteica. En general, el maíz mexicano contiene 10.2% de proteína cruda y bajos contenidos de lisina y triptófano, los cuales son, en promedio 0.39 y 0.091% por 100 g de muestra de harina de maíz, respectivamente (Rodríguez *et al.*, 1998).

Teniendo como base al año 2012, en los últimos 50 años se han desarrollado variedades híbridas de maíz especializadas para aplicaciones diversas. Destacan entre ellas los híbridos de alta producción, de calidad proteica, QPM, por sus siglas en inglés (Vasal, 1994; Espinosa *et al.*, 2005), de alto contenido de aceite, HOC por sus siglas en inglés (Thomison y Geyer, 2000., www.oardc.ohio-state.edu/hocorn/weiss_research.htm; Thomison *et al.*, 2003). En estos dos últimos tipos de maíz se pretende agregar valor calidad nutrimental a los granos del cereal y como tal, de mejor beneficio en alimentación humana y animal.

En México, el hallazgo de la poliembrionía (PE) en maíz, ha sido reportado por investigadores del Instituto Mexicano del Maíz “Dr. Mario E. Castro Gil” (IMM) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) que han venido estudiando la característica PE desde su manifestación en el compuesto selección súper enana 301-SSE, el cual exhibió inicialmente una frecuencia menor a 2%, lográndose luego el 20% al tercer ciclo de selección (Castro *et al.*, 1979), y de 46% al sexto (Gómez, 1980; Rodríguez, 1981) y en 1998 se logró una frecuencia de 61 a 63% (Espinosa *et al.*; 1998), hasta constituir poblaciones PE de porte normal y enanas. La versión fenotípica más frecuente de la PE es de dos plantas por semilla, sin embargo la selección continua ha redituado casos de tres o más plántulas en proporciones de 15 a 20% dentro del conjunto de plantas PE

(Espinoza *et al.*, 2008). Actualmente han generado dos poblaciones con frecuencia PE denominadas IMM-UAAAN-BAP (Enana PE) e IMM-UAAAN-NAP (Porte normal PE).

Se ha postulado que el mutante PE que se estudia en el IMM-UAAAN está asociada a contenidos altos de grasa cruda y los aminoácidos lisina y triptófano (Valdéz, 2005; González *et al.*, 2011). Estas características son buenas cualidades de la PE que pudieran tomarse en cuenta para incorporarlas a variedades de maíz especializadas en calidad nutrimental, esto es, si se toma en cuenta que el maíz común posee niveles bajos de grasa cruda y los dos aminoácidos esenciales mencionados (Paliwal, *et al.*, 2001), además de la necesidad de aumentar la oferta de alimentos saludables, a través del mejoramiento genético del cultivo utilizando fuentes de variación naturales, como la PE.

La línea de investigación en poliembrionía del IMM-UAAAN, busca en la etapa actual establecer una correlación positiva de este fenómeno aumentando su frecuencia, generando nuevas variedades de importancia agronómica, de alto rendimiento y calidad nutrimental del grano. Teniendo en cuenta estos aspectos y contando, con poblaciones sometidas a selección a favor de la PE, esta investigación se realizó con la finalidad de explorar el desarrollo de metodología para recuperar la PE de grupos genotípicos segregantes F_1 , F_2 , RC_1 y F_3 . El trabajo tuvo los objetivos e hipótesis siguientes.

Objetivos

- 1) Generar fuentes germoplásmicas de maíz que conjuguen rendimiento y calidad nutrimental de grano.

- 2) Establecer una metodología para combinar dosis de germoplasma de naturaleza PE con germoplasma de maíz común (No-PE), normal, de cualidades agronómicas sobresalientes, que permitan recuperar de manera exitosa la PE con capacidad de rendimiento y calidad nutrimental.

- 3) Explorar la posibilidad de seleccionar genotipos con PE recuperada a través de indicadores de calidad del sistema radical seminal.

- 4) Validar la propuesta de herencia de esta PE controlada por un sistema de 2 loci en interacción epistática recesiva duplicada.

Hipótesis

- 1) La herencia de la PE en las progenies F_2 de cruces iniciales Genotipo PE x Genotipo Normal, está controlada por dos loci en interacción epistático, del tipo 15:1 (Normal: PE).
- 2) Dada la herencia del carácter PE es viable y redituable recuperar genotipos que además de ser poliembriónicos contengan germoplasma de fuentes con probada capacidad de producción y otras cualidades agronómicas.
- 3) La proporción de la PE recuperada se incrementa en F_3 cuando se practica apareamiento preferencial dentro de grupos segregantes F_2 .

II. REVISIÓN DE LITERATURA

Origen del maíz

Los planteamientos o teorías sobre el origen del maíz son amplios y variados, a pesar de ello, todavía hay discrepancias respecto a los detalles sobre este tema. Generalmente se considera que el maíz fue una de las primeras plantas cultivadas por los agricultores en América hace 7 000 a 10 000 años. La evidencia más antigua del maíz como alimento humano proviene de algunos lugares arqueológicos en México donde se ha documentado el hallazgo de pequeñas mazorcas de maíz estimadas en más de 5 000 años de antigüedad.

En la actualidad el maíz cultivado es una planta completamente domesticada, el hombre y el maíz han vivido y han evolucionado juntos desde tiempos remotos. El maíz no crece en forma salvaje y no puede sobrevivir por si solo en la naturaleza, siendo completamente dependiente de los cuidados del hombre.

Importancia del maíz

El maíz, *Zea mays* L. en la clasificación Lineana, o *Zea mays* sp. *mays* en la taxonomía reciente (Iltis H H y J Doebley, 1980, citados por Doebley, 2003) es una especie única por la gran diversidad genética de la planta, mazorca y del grano, por su adaptación a un amplio rango de ambientes, por su resistencia a enfermedades e insectos; por su tolerancia a distintos efectos climáticos, por sus

múltiples usos como alimento humano o animal y por la gran variedad de productos que se obtienen de esta especie (Sánchez *et al.*, 2000).

El endospermo del grano de maíz es la zona más importante de almacenamiento de los carbohidratos y de las proteínas sintetizadas por esta especie fotosintéticamente eficiente (del grupo C4 en fotosíntesis). En los tipos de maíces comunes, el endospermo comprende cerca del 84% del peso seco del grano, el embrión abarca el 10%, el pericarpio y el escutelo componen el restante 6%. Si bien la producción de grano es la razón principal del cultivo del maíz, todas las partes de la planta, hojas, tallos, panojas y olores son utilizadas para diversos fines. El maíz es usado en un mayor número de formas distintas que cualquier otro cereal; las formas principales en que se utiliza es como alimento humano, ya sea doméstico o industrial; alimento para animales y fermentado para varios productos industriales.

El maíz es uno de los tres cereales de uso alimenticio e industrial más importantes a nivel mundial. A juzgar por la superficie de siembra global, durante el ciclo comercial 2011/2012 se sembraron 168.4 M ha, en los últimos cinco años (2007/2008 a 2011/2012) el promedio de producción mundial es \approx 823.5 M de t, en crecimiento ciclo tras ciclo. Los países de mayor producción e incluso algunos de mayor consumo se encuentran entre los más poderosos, económica y militarmente, lo que ubica a este cereal como un producto estratégico. Se prevé que el cultivo aumente en superficie en 4.1% y la producción crezca a una tasa de 8.8% para el próximo ciclo 2012/2013 (FIRA, 2012).

Maíces de especialidad

La composición nutrimental del grano de los híbridos típicos de maíz moderno contiene alrededor de 4% de aceite, 9% proteína, 73% almidón y 14% de otros constituyentes, principalmente fibra (Paliwal *et al.*, 2001; Clark *et al.*, 2006).

La calidad de grano puede ser mejorada por la alteración de los constituyentes primarios del grano anteriormente mencionados y así crear variedades más aptas para usos específicos (Clark *et al.*, 2006).

Los maíces modernos se han clasificado en siete grupos, que son los cristalinos (Flints), dentados (dents), harinosos, palomeros, cerosos, dulces, y tunicados, este último es utilizado sólo con fines de investigación pero los otros seis son de uso generalizado en la producción de diferentes tipos de maíz, con diferentes aplicaciones industriales y de consumo. De hecho, esta agrupación es el primer nivel de especialización del maíz.

En la actualidad, se cuenta con una serie de variedades diseñadas en procesos para determinadas aplicaciones, por ejemplo, los maíces forrajeros, dulces, alto contenido de aceite, calidad proteica, etc. Tómese por ejemplo a los maíces altos en aceites, el aceite del grano de maíz está fundamentalmente en el germen y está determinado genéticamente, con valores que van del 3 al 20 por ciento (Lambert, 2001; Clark *et al.*, 2006), a partir de este conocimiento, se puede trabajar para generar variedades híbridas especializadas en alto contenido de aceite, de utilidad en la alimentación de aves y cerdos de engorda (Feed & Grain, 1998).

La calidad nutrimental de grano pudiera ser una estrategia de importancia en programas de desarrollo agrícola y de nutrición en comunidades rurales, logrando que las variedades de los cultivos básicos contengan niveles altos de algunos nutrientes, como son minerales, aminoácidos esenciales, aceites insaturados, etc. (Valdéz, 2005; Espinoza *et al.*, 2008; González *et al.*, 2011).

En el IMM-UAAAN se ha trabajado en los últimos 15 ciclos con las poblaciones denominadas brevemente como BAP y NAP, ambas de alta frecuencia poliembriónica y un nivel de alrededor de 6 % de grasa cruda en el grano, y durante los últimos 6 ciclos con la población Tuxpeño-HOC, por sus siglas en inglés (High Oil Corn), muestra otorgada al IMM-UAAAN por CIMMYT, la cual contiene aproximadamente 8.9 % de grasa cruda en el grano (Valdéz, 2005). La introgresión entre estas tres poblaciones es con la finalidad de derivar nuevas combinaciones germoplásmicas que aumenten el nivel de aceites y mantengan la condición de poliembriónía en los genotipos segregantes. Hasta ahora, la mejor combinación de germoplasma de Tuxpeño con BAP y NAP es 50:50, obtenidos en las F_1 , luego por recombinación genética a F_2 y a nivel más avanzado, en filiales F_3 (González *et al.*, 2011).

El programa de maíces altos en frecuencia de la poliembriónía (PE) del IMM-UAAAN, se orienta a generar germoplasma de amplia variabilidad, que conserve el carácter PE, que sirva como germoplasma base en el diseño de variedades especializadas en calidad nutrimental del grano, altos en aceites y los aminoácidos lisina y triptófano.

Origen y herencia de la poliembrionía en maíz

Ciertas clases de PE en maíz pueden originarse de varias maneras, como mediante la formación de gemelos o tripletes a partir de célula huevo proembrionaria (cleavage), o de sacos embrionarios múltiples en un óvulo, e incluso por inducción con la fitohormona 2-4-D en sacos embrionarios 2 d después de la polinización (Erdelska y Vidovencova, 1992)

Los tipos principales de PE en maíz, detectados a partir de un análisis histológico, está en función del origen de los embriones, su localización en el grano diferencia en su estructura (tejidos comunes) y el tipo de germinación. De acuerdo con este autor la PE se origina de tres maneras: embriones pares que provienen de sacos embrionarios múltiples, se ubican en lados opuestos, o a distancia, en el grano, los cuales carecen de tejidos comunes y germinan independientemente, casos de gemelos o triples que provienen de células huevo individuales del saco embrionario o de células con capacidades multi-huevo que están estrechamente adheridas, pero estrictamente separados por capas epidérmicas; con un endospermo en común; las plúmulas y radículas son independientes; y el caso de los poliembriones originados por multiplicación de la célula huevo (cleavaje) en vivo y de manera espontánea o después de una inducción, comparten un suspensor común, parte del escutelo y capas superficiales de radicular; por ello, los embriones germinan con plúmulas separadas pero un solo complejo radicular.

Se ha postulado también que la PE puede causarse por el gen mutante *ig*, que en condición homocigota en plantas madres, produce efectos inusuales en el

embrión y puede presentar 6% de poliembrionía y 3% de monoploidía, además de otros efectos secundarios (Kermicle, 1969). Otro autor señala que la herencia de cierto tipo de poliembrionía en maíz es por un gen simple, recesivo (Pilu, 2000). Originalmente, el control genético para la PE que se identificó y estudia en el IMM-UAAAN se propuso como un carácter de herencia cuantitativa, con una heredabilidad $h^2 = 65\%$ determinada por la regresión progenie-progenitores (Castro, 1979).

Aplicaciones agronómicas de la PE en maíz, sin incluir la que pudiera causar el mutante *ig*, ha sido reportada por Pesev *et al.* (1976) a través de la formación de líneas endogámicas, y en la aplicación de esquemas de selección recurrente para incrementar su frecuencia (Espinoza *et al.*, 1998).

La PE objeto de estudio en este trabajo de tesis es la que puede ser observada en dos poblaciones de maíz, una de porte alto (IMM-UAAAN-NAP) y otra enana (IMM-UAAAN-BAP), ambas derivadas de la población base que mencionan Espinoza *et al.* (1998) y en las que actualmente el carácter se concentra en frecuencias promedio superiores a 55%. En estas poblaciones, la PE se considera como un carácter que potencia el rendimiento y la calidad nutricional del grano, porque genera dos o más plantas completas por semilla, contiene de 30 a 50% más grasa cruda, 15 a 20% más ácido graso oleico, y 20 a 50% más de lisina que el maíz común (Espinoza *et al.*, 1998; Valdés, 2005; Espinoza *et al.*, 2008; González *et al.*, 2011).

El potencial de utilización de esta PE ha motivado el replanteamiento de los mecanismos de herencia que la controlan, pues en un principio fue considerada como de herencia cuantitativa (Espinoza *et al.*, 1998) y con respuesta a la selección (Espinoza y Vega, 2000) sin embargo, hasta ahora no se ha podido constituir una población totalmente poliembriónica, aun después de 20 ciclos de selección recurrente. Estudios subsecuentes sobre esta materia han permitido establecer que el carácter PE en las poblaciones experimentales del IMM-UAAAN, es un carácter cualitativo, controlado por la acción de dos loci con interacción epistática, de recesividad duplicada, es decir que basta sólo un gen dominante para enmascarar la acción de cualquiera de los dos mutantes en condición recesiva, por lo tanto el patrón de segregación de esta PE en F₂ es de 15 plantas Normales: 1 poliembriónica. Además, la manifestación fenotípica de la PE es de penetrancia incompleta y expresividad variable, de acuerdo con Espinoza *et al.* (2008) y Rebolloza *et al.* (2011).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se desarrolló en tres etapas, que corresponden a la utilización de materiales genéticos específicos de maíz, así como el manejo experimental correspondiente. La Uno corresponde a la evaluación de progenies F_2 de cruzamientos iniciales entre materiales exóticos x BAP; la Dos, a la evaluación de progenies F_2 pero donde las cruzaas iniciales fueron materiales exóticos con NAP, y Tres, la evaluación de progenies provenientes de cruzamientos dialélicos entre los genotipos segregantes F_2 de los dos grupos, BAP y NAP, es decir, progenies a nivel de F_3 . La experimentación fue principalmente a nivel de plántula, aunque en la segunda etapa se presentan algunas características productivas de plantas PE adultas.

Etapa Uno. Experimentos en pilas hidroiónicas (hidroponía) y campo, segregantes de (Exóticos x BAP) F_2

Material genético. En esta etapa se utilizaron los genotipos de maíz segregantes F_2 , que provienen de cruzaas iniciales entre la población poliembriónica (PE) enana, denominada IMM-UAAAN-BAP (en lo sucesivo = BAP) y cinco genotipos genéticamente diferentes (Exóticos) a BAP, los cuales consistieron de cuatro híbridos comerciales y una población denominada Tuxpeño de alto contenido de aceite en grano (Cuadro 3.1). La evaluación de estos grupos se hizo en Pilas hidroiónicas para observar el desarrollo de plántulas a 28 días después de la siembra. Las plántulas resultantes fueron establecidas en campo,

donde se trasplantó a plántulas seleccionadas que se expresaban como PE de cada uno de los grupos segregantes. Los trabajos en campo se llevaron a cabo para generar los cruzamientos posibles entre los cinco genotipos. También, se llevó a cabo polinizaciones planta a planta para obtener una versión de F_3 en cada grupo, evitando la los cruzamientos entre plantas hermanas.

Cuadro 3. 1. Genotipos de maíz, segregantes de (Exóticos × BAP) F_2 .

Genotipo segregante F_2 , 1, denominado en lo sucesivo como (GS1) = 30G59, de Pioneer.

Genotipo segregante F_2 , 2 (GS2) = Leopardo (de Asgrow)

Genotipo segregante F_2 , 3 (GS3) = DK 2020 (de Dekalb)

Genotipo segregante F_2 , 4 (GS4) = Puma (de Asgrow)

Genotipo segregante F_2 , 5 (GS5) = Población Tuxpeño HO (muestra proporcionada por CIMMYT).

Experimento en pilas hidroiónicas. Se llevó a cabo en dos pilas de concreto, cada una con dimensiones de 10 m × 1.40 m × 1.0 m (largo, ancho, alto) las cuales se llenan con agua limpia, de riego, hasta una altura de 0.8 m (Fig. 3.1.a). Las pilas cuentan con dos cejas de concreto, que corren de manera paralela y que sirven para sostener cabrillas o canaletas de acero inoxidable, las cuales tiene dimensiones de 1 m × 10 cm (largo y ancho), éstas cuentan con una pestaña de cada lado, de 2 cm para tener un mejor soporte (Fig. 3.1.b), cada una cuenta con 10 agujeros de 2 cm al centro. La siembra (mayo, 2011) se realizo de la siguiente manera: En los orificios, se colocaron conos, construido a partir de seis hojas de papel higiénico absorbente, sitio para colocar la semilla (dentro del cono). Al terminar la siembra, se inició el llenado de las pilas, tratando que el espejo de agua llegara a una altura de 0.80 m, cubriendo solamente las puntas de

los conos y por medio de absorción se mantuvieran húmedos, que permitieran el proceso de germinación. Concluido este proceso, las pilas se cubrieron (Fig. 3.1.c) con una malla-gallinero, para evitar la entrada de pájaros, ardillas, etc. que pudieran dañar el experimento, y en ocasiones se colocaba una lona sujeta (Fig. 3.1.d), cuando existían condiciones climáticas adversas (lluvias, vientos fuertes, etc.) que pudieran dañar los conos. La calificación de plántulas ocurrió a los 28 días de edad, las variables observadas fueron como sigue, Emergencia de plántulas normales y anormales, y conteo de casos con poliembrionía,

Diseño experimental. Los genotipos se distribuyeron (Fig. 3.1.e) bajo un diseño experimental de bloques completos al azar, cinco repeticiones. Cada genotipo fue representado por 180 semillas por bloque, por lo que cada genotipo segregante se evaluó con base en 900 semillas. Este experimento se llevó a cabo en las inmediaciones del departamento de Agro física, Campo Agrícola Experimental Buenavista, en la UAAAN, sede en Saltillo, Coah.



Fig. a)



Fig. b)



Fig. c)



Fig. d)



Fig. e)

Figura 3. 1 Establecimiento del experimento en pilas hidroiónicas. 3.1.a) estructura de las pilas, 3.1. b) siembra en conos de papel absorbente, soporte de rejillas de acero, 3.1.c) Pilas que exhiben el lote sembrado y protegido con malla-gallinero, 3.1.d) Pilas cubiertas de manera temporal con lonas protectoras de lluvia-granizo, 3.1.e) Establecimiento del experimento, disposición del diseño, inicio de la emergencia de plántulas.

Establecimiento en campo. Una vez tomados los datos del experimento en las pilas, se tomó de cada grupo segregante un conjunto de plántulas que exhibían PE para llevarlas a trasplante en campo (Fig. 3.2.a). Antes del trasplante, las labores culturales en campo fueron efectuadas en el momento oportuno iniciando con el barbecho, seguido de rastra, para después surcar y trasplantar.

Las plántulas se dispusieron de manera aleatoria en surcos de 5.5 m de largo, con una distancia entre surcos de 0.80 m y entre plantas de 0.20 m. El trasplante se realizó de manera manual (Fig. 3.2.b), usando herramienta (coa) para hacer los posos e introducir una plántula (Fig. 3.2.c), cubriendo y apretando con tierra por debajo de las primeras hojas (Fig. 3.2.d). En la fertilización se empleó la fórmula N-P-K = 160-80-00, dividiéndola en dos partes, la primera durante el trasplante, aplicando (80-80-00); y la segunda aplicación (80-00-00) al cultivo. Los riegos fueron por medio de cintilla (Fig. 3.2.e), instalándola después del trasplante, a un costado de las plantas. Los riegos fueron al momento del trasplante para asegurar el desarrollo de las plántulas, los demás riegos estuvieron sujetos a los

requerimientos de crecimiento y desarrollo del cultivo, así como a las precipitaciones pluviales de la región.



Fig. a)



Fig. b)



Fig. c)



Fig. d)



Fig. e)



Fig. f)

Figura 3. 2.Establecimiento en campo.3.2.a) Plántulas PE seleccionadas para el trasplanta a los 21 días de edad. 3.2.b) Haciendo pozos para facilitar el trasplante, 3.2.c) Introduciendo plántulas en pozos 3.2.d) Cubriendo parte radical con tierra, 3.2.e) Exhibición de lote y acomodo de cintilla, 3.2.f) Grafico del método de control en campo.

El control de malezas se hizo de forma cultural (azadón manual). Para el control de plagas se hicieron las actividades y aplicaciones de los agroquímicos recomendados (Fig. 3.2.f), de acuerdo al tipo de plaga, y con las dosis recomendadas de acuerdo al cultivo. El establecimiento se llevó a cabo en las inmediaciones del IMM, Campo Agrícola Experimental Buenavista, en la UAAAN, sede en Saltillo, Coah.

Etapa Dos. Experimentos en invernadero y campo, segregantes (Exóticos x NAP) F₂

Material genético. Los genotipos fueron un grupo de segregantes F₂ que provienen de cruzas iniciales entre la población poliembriónica, denominada IMM-UAAAN-NAP (porte normal), tres híbridos comerciales y la población Tuxpeño HO (Cuadro 3.2.). En esta etapa se establecieron dos experimentos, uno en Invernadero para observar el desarrollo de plántulas a los 14 días después de la siembra, y otro, en campo donde se trasplantó a las plántulas PE seleccionadas en invernadero de cada uno de los grupos segregantes, eligiendo plántulas con buen vigor y bien conformadas. Los trabajos en campo se llevaron a cabo para obtener información agronómica y generar los cruzamientos posibles entre los cuatro genotipos, y una versión de F₃ al incrementar cada uno de ellos por la vía de cruce planta a planta dentro de cada grupo, evitando cruzar a plantas hermanas entre sí.

Cuadro 3. 2 Genotipos de maíz, segregantes de (Exóticos x NAP) F₂.

Genotipo segregante 1(GS1) = 30G59 (de Pioneer)

Genotipo segregante 2 (GS2) = Leopardo (de Asgrow)

Genotipo segregante 3 (GS3) = Oso (de Asgrow)

Genotipo segregante 4 (GS4) = Población Tuxpeño HO (muestra proporcionada por CIMMYT).

Experimento en invernadero. Cada uno de los genotipos se representó por una muestra aleatoria de 960 semillas, distribuidas en cuatro repeticiones de 240 y se dispusieron en cuatro tipos de macetas. Para la siembra (junio-2011) se uso un sustrato con una mezcla de tierra de bosque de pino y peat moss en

proporción de 2:1, Los riegos fueron con regadera manual, 6 L diarios. El establecimiento se llevó a cabo en el invernadero No. 3, Área de invernaderos, Campo Agrícola Experimental Buenavista, en la UAAAN, sede en Saltillo, Coah.

La calificación de plántulas ocurrió a los 14 días de edad. Las variables observadas directamente de las macetas fueron como sigue, Emergencia de plántulas (germinación), Poliembrionía y casos de plántulas con Anormalidades. Una vez registrada la información de cada genotipo, se separaron 30 matas (dos o más plántulas por semilla germinada) con la finalidad de trasplantarlas en campo y llevarlas a la reproducción y desarrollar apareamientos de un dialélico completo, cruzamientos directos y recíprocos entre los cuatro genotipos, de apareamiento planta a planta dentro de cada genotipo.

Diseño experimental. En invernadero, los genotipos se dispusieron en un diseño experimental de bloques completos al azar (Fig. 3.3.a) cuatro repeticiones. Cada genotipo fue representado por 240 semillas por bloque. Los bloques se refieren al tipo de maceta utilizada, como sigue: I = envases tetrapac de 1 L (Fig. 3.3. a y b), sembrando dos semillas, con separación en diagonal de 7 cm entre ellas; II = mismo tipo de envases pero que recibieron sólo una semilla por caso; III = envases de plástico negro (Fig. 3.3.c), tubos de 25 cm de alto y diámetro de 7 cm, una semilla por caso; y IV = vasos de unicel (polietileno expandido) con capacidad de 1 L (Fig. 3.3.d), dos semillas por caso, separación de 7 cm entre ellas).



Fig. a)



Fig. b)



Fig. c)



Fig. d)

Figura 3. 3. Establecimiento en invernadero. 3.3.a) Exhibición y distribución general. 3.3.b), 3.3.c) y 3.3.d) materiales experimentales para germinación.

Experimento en campo. Las plántulas PE utilizadas en el trasplante (Fig. 3.4.a), se dispusieron en campo bajo un diseño experimental completamente al azar, dos repeticiones. La unidad experimental (parcela) consistió de un surco de 5 m de longitud, el cual recibió en trasplante a 15 matas PE.

El trasplante se realizó de manera manual, usando herramienta (azadón) para hacer los posos e introducir la mata en cepellón (Fig. 3.4.b), cubriendo y apretando con tierra por debajo de las primeras hojas. La fertilización se hizo con la formula N-P-K = 180-90-00, dividiéndola en dos partes, la primera durante el trasplante (Fig. 3.4.c), aplicando (90-90-00); y la segunda aplicación (90-00-00) en

la primer cultivada. El primer riego se aplicó manualmente al momento del trasplante (Fig. 3.4.d). Los riegos posteriores se aplicaron por medio de cintilla, instalándola después del trasplante, a un costado de las plantas al momento requerido, en función de los requerimientos de crecimiento y desarrollo del cultivo, así como a las precipitaciones pluviales de la región, la cosecha de la etapa 1 y 2 se realizo en octubre de 2011. El establecimiento (Fig. 3.4.e) se llevó a cabo en las inmediaciones del IMM, Campo Agrícola Experimental Buenavista, en la UAAAN, sede en Saltillo, Coah.



Fig. a)



Fig. b)



Fig. c)



Fig. d)



Fig. e)

Figura 3. 4. Establecimiento en campo.3.4.a) Plántula PE seleccionadas. 3.4.b) Distribución de los genotipos. 3.4.c) Aplicación de fertilizante al suelo. 3.4.d) Aplicación de riego después de trasplante 3.4.e) Exhibición del establecimiento.

Etapas Tres. Experimento en invernadero, de los genotipos derivados de dialélicos al cruzar genotipos (Exóticos x BAP) F₂ y (Exóticos x NAP) F₂

Material genético del dialélico para F₂ (Exóticos x BAP). Los materiales genéticos utilizados fueron 26, de las cuales 10 cruzas directas, 10 cruzas recíprocas, 5 progenitores más el testigo, híbrido comercial AN-447 (Cuadro 3.3.).

Cuadro 3. 3. Genotipos del dialélico generado con materiales (Exóticos x BAP) F₂.

Genotipo segregante 1 (GS1) = [(Leopardo x BAP)F₂] x GS2, xGS3, xGS4, x GS5 y x GS1
Genotipo segregante 2 (GS2) = [(30G59 x BAP)F₂] x GS1, x GS3, x GS4, x GS5 y x GS2
Genotipo segregante 3 (GS3) = [(DK 2020 x BAP)F₂] x GS1, x GS2, x GS4, x GS5 y x GS3
Genotipo segregante 4 (GS4) = [(Puma x BAP)F₂] x GS1, x GS2, x GS3, x GS5 y x GS4
Genotipo segregante 5 (GS5) = [(Población Tuxpeño x BAP)F₂] x GS1, x GS2, x GS3, x GS4 y x GS5
T = Testigo, Híbrido comercial AN-447

Diseño experimental. En Invernadero, los genotipos se dispusieron en un diseño experimental de bloques completos al azar, tres repeticiones. Cada genotipo fue representado por 50 semillas por bloque. Los bloques se refieren al tipo de parcela ubicada en la charola de germinación, con dimensiones de 65 x 34 x 7 cm.

Manejo del establecimiento. Cada una de las charolas tiene 200 cavidades, sin embargo, se utilizaron sólo surcos alternos para tener mejores condiciones al momento de evaluación de plántulas. Dado lo anterior, la siembra (mayo-2012) se realizó de la siguiente manera: cada charola contuvo a dos parcelas de 50 semillas (Fig. 3.5.a). El sustrato de siembra fue una mezcla de tierra de bosque de pino y peat moss en proporción de 2:1 p/v. Los riegos fueron

diarios con regadera manual (Fig. 3.5.b). La calificación de plántulas en invernadero ocurrió a los 14 días de edad (Fig. 3.5.c). Las variables observadas fueron: las denominadas en este trabajo como de “interés general” Emergencia de plántulas, Poliembrionía (Fig. 3.5.d), plántulas Anormales (Fig. 3.5.e), y las denominadas como “variables de plántula” Longitud de raíz, Longitud de tallo, Número de raíces de corona, Número de raíces laterales, Número de hojas, Peso fresco total, Peso fresco parte aérea y Peso fresco del SRS o de raíz.

El establecimiento se llevó a cabo en fechas de abril, 2012, en el invernadero Núm. 3, en las inmediaciones del Área de invernaderos, Campo Agrícola Experimental Buenavista, en la UAAAN, sede en Saltillo, Coah.



Fig. a)



Fig. b)



Fig. c)



Fig. d)



Fig. e)

Figura 3. 5. Establecimiento en invernadero. 3.5.a) Emergencia de plántulas en cajas de germinación a los 5 días después de la siembra. 3.5.b) Sistema de riego 3.5.c) Panorama general a los 10 días 3.5.d) Exhibición de plántulas PE con buena conformación 3.5.e) Exhibición de plántulas con varios casos de anomalías.

Material genético del dialélico para F₂ (Exóticos x NAP). Los genotipos fueron 17, como sigue materiales genéticos utilizados en Invernadero fueron 17 genotipos segregantes de cruzamientos F₃ de NAP x Híbridos Comerciales y un Testigo, Híbrido comercial AN-447. El establecimiento se llevó a cabo en las inmediaciones del Área de invernaderos, Campo Agrícola Experimental Buenavista, en la UAAAN, sede en Saltillo, Coah.

Cuadro 3. 4. Genotipos del dialélico generado con materiales (Exóticos x NAP) F₂.

Genotipo segregante 1 (GS6) = [(Leopardo x NAP)F₂] x GS7, x GS8, x GS9 y x GS6
Genotipo segregante 2 (GS7) = [(30G59 x NAP)F₂] x GS6, x GS8, x GS9 y x GS7
Genotipo segregante 3 (GS8) = [(Oso x NAP)F₂] x GS6, x GS7, x GS9 y x GS8
Genotipo segregante 4 (GS9) = [(Tuxpeño HO x NAP)F₂] x GS6, x GS7, x GS8 y x GS6
T = Testigo, Híbrido comercial AN-447

Diseño experimental. Los genotipos se dispusieron en un diseño experimental de bloques completos al azar, tres repeticiones. Cada genotipo fue representado por 50 semillas por bloque (Fig. 3.6.a). Los bloques se refieren al tipo de parcela ubicada en la charola de germinación, con características ya descritas en la sección anterior.

Manejo del establecimiento. El establecimiento y manejo de estos materiales fue igual al que se aplicó a los materiales del dialélico anterior. El sustrato de siembra fue el mismo ya descrito, y los riegos se aplicaron de igual manera (Figs. 3.6. a, b, c). Las variables observadas fueron como sigue, Emergencia de plántulas, Poliembrionía, Anormalidades, Longitud de raíz,

Longitud de tallo, Número de raíces de corona, Número de raíces laterales, Número de hojas, Peso fresco total, Peso fresco parte aérea y Peso fresco de raíz.



Fig. a)



Fig. b)



Fig. c)

Figura 3. 6. Establecimiento en invernadero. 3.6.a) Distribución de las cajas de germinación 3.6.b) Aplicación de riego 3.6.c) Plántulas a los 10 días.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Etapa Uno. Experimento en pilas hidroiónicas y campo, segregantes de (Exóticos x BAP) F₂

La calificación de plántulas ocurrió a los 28 días de edad, cuando se alcanzó la expresión fenotípica requerida para la evaluación. Las variables de características generales en esta investigación son: Emergencia de plántulas (PG), poliembrionía (PPE), y anormalidades (PA). Los datos se analizaron con el paquete estadístico SAS en la aplicación de Proc Anova. En casos de variables que presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$ ó 0.01) entre genotipos, se aplicó una prueba de medias (Tukey, $\alpha = 0.05$) para ubicar la jerarquía de los materiales. Por otra parte, considerando que la poliembrionía (PE) es una característica cualitativa, heredable de manera simple, los datos obtenidos se utilizaron para probar la hipótesis de segregación propuesta por Rebolloza *et al.* (2011).

Los datos para la experimentación en pilas hidroiónicas se muestran en el Cuadro 4.1. Los valores significan promedios a través de bloques, mas / menos una desviación estándar.

Cuadro 4. 1. Promedios en plántulas segregantes de cruzas (Exóticos x BAP) F₂.

GEN	PG	PPE	PA
GS1	76.2 ± 10.9	3.1 ± 0.9	29.0 ± 5.5
GS2	77.0 ± 5.9	2.2 ± 1.2	27.6 ± 8.5
GS3	83.9 ± 5.6	3.3 ± 1.6	26.6 ± 5.2
GS4	78.4 ± 10.5	2.1 ± 1.0	27.2 ± 10.4
GS5	85.0 ± 8.5	4.4 ± 2.3	28.2 ± 5.6
Promedio General	80.9	3.0	27.7

GEN: Genotipos, significa la F₂ de la crusa original GS1 = 30G59 x BAP, GS2 = Leopardo x BAP, GS3 = DK2020 x BAP, GS4 = Puma x BAP y GS5 = Tuxpeño HO x BAP. PG= Por ciento de germinación, PPE = Por ciento de poliembrionía y PA = Por ciento de plántulas anormales.

Los datos obtenidos en pilas hidroiónicas son interesantes desde varios ángulos, uno de ellos puede ser el relativo a la capacidad de las semillas de germinar en un sustrato puramente de agua simple, otro es en función de la duración que tomó el proceso siembra-emergencia-plántula a condición fenotípica para evaluación. Regularmente, este periodo toma 2 a 3 semanas en invernadero en cajas de germinación o macetas con sustrato de suelo aligerado, o en campo abierto. En pilas la duración fue de 4 semanas, en fechas del mes de mayo, 2011. La diferencia en tiempo entre pilas-invernadero representó un retraso considerable para alcanzar la expresión fenotípica de evaluación. Una explicación posible es que la semilla, al germinar, utilizó sólo nutrientes de las reservas del grano, ya que, en lo general, el agua pura no posee iones minerales utilizables de los tres elementos mayores (N:P:K), por otra parte, en las siembras de invernadero, el sistema radical seminal puede absorber algunos nutrientes del sustrato-suelo en las macetas que complementan el suministro de las reservas de la semilla.

La variable PG (germinación) presentó un promedio general inferior a 85%, medida práctica del por ciento mínimo para semillas comercial para siembra, utilizado aquí como un referente para decidir sobre el éxito de la germinación de cualquier genotipo, en el medio utilizado para su expresión. De acuerdo al procedimiento en pilas, es muy probable que éste haya influido negativamente la germinación. De cualquier modo, la diferencia de 9% en la germinación entre los genotipos extremos (GS5 vs GS2) resultó estadísticamente igual, pero si influyó la fuente bloques, lo cual pudiera indicar diferencias entre la ubicación en pilas diferentes (Cuadro 4.3).

La poliembrionía manifiesta en la segregación F_2 de estos genotipos se ubicó en el intervalo de 2 a 4%, los cuales son valores nominalmente inferiores al 6.25% esperado en función de la hipótesis de herencia de dos loci en interacción epistática, propuesto por Rebolloza *et al.* (2011). Sin embargo, la prueba de Ji Cuadrada aplicada a los datos no rechaza ninguna de las proporciones observadas (Cuadro 4.2). Como se plantea por estos autores, la PE de los maíces del IMM-UAAAN está acompañada por el fenómeno de penetrancia incompleta, esto es, en función del germoplasma exótico con quienes se cruce las poblaciones PE, habrá ninguna o alguna reducción de la expresión de la PE. Los resultados de este trabajo indican que el germoplasma donado por los genotipos GS2 y GS4 son los que redujeron en mayor medida la expresión de PE proveniente de la población BAP.

La expresión de anomalías en el proceso de germinación de las poblaciones PE del IMM-UAAAN ha sido una característica recurrente (Espinoza

et al., 1998). El experimento en pilas hidrónicas acentuó la manifestación de estas anomalías, presentando frecuencias de 27 a 29%, que son de las más altas registradas en experimentos con materiales PE. Es muy probable que haya un efecto adverso causado por el manejo que se le dio al material experimental en este medio de germinación. Es pertinente mencionar que de las dos poblaciones PE, la BAP (enana) es generalmente la que presenta una proporción mayor de anomalías a la germinación.

Cuadro 4. 2. Prueba de bondad de ajuste segregantes de (Exóticos x BAP) F₂[§].

GEN	Clases		X ² Calculada	X ² Tab.= 1 gl, α=0.05	Ho 15:1
	Normal	PE			
GS1	656	28	0.119	Dado que 0.119 < 3.84	Se Acepta la Ho
GS2	674	20	0.292	Dado que 0.292 < 3.84	Se Acepta la Ho
GS3	725	30	0.133	Dado que 0.133 < 3.84	Se Acepta la Ho
GS4	685	19	0.324	Dado que 0.324 < 3.84	Se Acepta la Ho
GS5	726	40	0.027	Dado que 0.027 < 3.84	Se Acepta la Ho

[§] GEN: Genotipos, significa la F₂ de la cruce original GS1 = Leopardo x BAP, GS2 = (30G59) x BAP, GS3 = DK2020 x BAP, GS4 = Puma x BAP, y GS5 = (Tuxpeño HO) x BAP.

Cuadro 4. 3. ANVA de germinación en segregantes (Exóticos x BAP) F₂[§].

FV	PGER	PPE	PA
GL	4	4	4
SC REP	732,6	9.68	607.44
SC GEN	334.64	17.4	17.04
CM REP	183,2	2.42	151.86
CM GEN	83.66	4.35	4.26
F Calculada REP	4.01	1.18	5.16
F Calculada GEN	1.83	2.13	0.14
Significancia REP	*	NS	**
Significancia GEN	NS	NS	NS
Media	80.12	3.05	27.7
CV	8.44	46.95	19.56
R ²	59%	45%	57%

[§] PG: Por ciento de germinación, PPE: Por ciento de poliembrionía, PA: Por ciento de anormales.

Los resultados del análisis de varianza (Cuadro 4.3) correspondiente a la disposición de los genotipos en diseño de bloques completos al azar en espacios de dos pilas hidroiónicas, muestran diferencia estadísticas para las variables PG y PA sólo para efecto de bloques, lo que valida la decisión de establecer el diseño señalado. Nótese que el CV correspondiente a la variable PE fue muy superior a 20%, lo cual es acorde a una variable cualitativa, donde lo que se prueba en cada genotipo es la proporción de las clases No-PE vs PE, condición probada en este trabajo a través de Ji Cuadrada.

Etapas Dos. Experimentos en invernadero y campo, segregantes de (Exóticos × NAP) F₂

En el Cuadro 4.4, se muestran los datos para la experimentación en invernadero, se consigna medias de germinación por genotipo segregante a través de bloques, frecuencia de la PE, y frecuencia de plántulas anormales. Cada media se acompaña de la desviación estándar correspondiente.

Cuadro 4. 4. Promedios de plántulas en segregantes (Exóticos × NAP) F₂[§].

GEN	PG	PPE	PA
GS6	93.6 ± 4.1	3.1 ± 0.7	5.2 ± 2.1
GS7	92.9 ± 1.7	6.8 ± 1.0	2.4 ± 1.4
GS8	95.3 ± 1.1	4.7 ± 2.1	1.8 ± 0.9
GS9	93.5 ± 1.7	4.4 ± 1.8	2.7 ± 2.0
Promedio General	93.8	4.7	3.0

[§] GEN: Genotipos, significa la F₂ de la cruce original de GS6 = 30G59 × NAP, GS7 = Leopardo × NAP, GS8 = Oso × NAP, GS9 = Tux HO × NAP. PG: Por ciento de germinación, PPE: Por ciento de poliembriónia, y PA: Por ciento de anormales.

La germinación en este grupo de genotipos es superior a 92% catalogada como buena si se compara con el mínimo de valor comercial que es 85%. Una

característica adicional es que la variación de los datos por genotipo es baja, que en el mayor de los casos es cercana al 5% del monto de la media, condición que puede significar una experimentación adecuada. A diferencia del grupo de genotipos de BAP, donde la PG fue generalmente inferior a 85%, la estrategia de manejo en macetas-sustrato-suelo establecidos en invernadero permitió una mejor expresión de los cuatro diferentes genotipos.

La PE en este grupo de genotipos segregantes F_2 se situó en el intervalo de 3 a 7%, valores cercanos a lo esperado para el mecanismo de herencia de esta característica mutante. En Cuadro 4.5, se muestran las pruebas de Ji Cuadrada para los cuatro genotipos. Como puede apreciarse, los estadísticos permiten establecer que todas las F_2 segregaron de acuerdo a lo esperado, 15:1, genotipos No-PE vs PE, y que si bien es cierto no hubo hipótesis rechazada, el genotipo GS7 presenta la probabilidad más alta en la ubicación de la Ji cuadrada calculada de todo el grupo, y que la proporción que presenta de casos PE es de sólo 3.1%, lo cual pudiera ser indicio de algún grado de obstrucción por penetrancia incompleta en la manifestación de la PE.

Cuadro 4. 5. Prueba de bondad de ajuste segregantes (Exóticos x NAP) F_2 §.

GEN §	Clases		X ² Calculada	X ² Tab.= 1 gl, α=0.05	Ho 15:1
	Normal	PE			
GS6	825	27	0.244	Dado que 0.244 > 3.84	Se Acepta la Ho
GS7	811	60	0.011	Dado que 0.011 < 3.84	Se Acepta la Ho
GS8	855	43	0.055	Dado que 0.055 < 3.84	Se Acepta la Ho
GS9	835	39	0.082	Dado que 0.082 > 3.84	Se Acepta la Ho

§GEN: Genotipos, significa la F_2 de la cruce original de GS6 = 30G59xNAP, GS7 = Leopardo x NAP, GS8 = Oso x NAP, GS9 = Tux HOxNAP.

La proporción de plántulas anormales (PA) es, evidentemente, menor que la documentada en los casos de segregantes F_2 de BAP ya que en los genotipos del grupo NAP, los valores se sitúan entre 2 y 5%. Esta característica es muy favorable para el propósito de recuperar la PE de estos genotipos segregantes.

Las tres variables de interés general en este trabajo son, por su naturaleza, muy especiales. La PG puede considerarse una característica cuantitativa, de distribución normal, que se mostró con buen éxito en este experimento, buen promedio, poca variación. Por otra parte, la PPE, como se sabe, es una variable cualitativa, de herencia simple y que puede probarse dentro de cada grupo segregante a través de una Ji cuadrada de bondad de ajuste, ya que se tiene la hipótesis de proporciones 15:1, por lo tanto, el análisis de varianza para detectar diferencias entre genotipos generalmente es inapropiado. Finalmente, la PA, es una variable compleja, que probablemente tenga una distribución diferente a la normal, dada la rareza de su ocurrencia. De cualquier modo, se corrió un análisis de varianza (Cuadro 4.6) donde se muestra la igualdad estadística de los cuatro genotipos para las tres variables. La pertinencia del análisis se muestra por los estadísticos CV y R^2 , los cuales son indicadores de la poca aplicabilidad del método en las variables PPE y PA.

Cuadro 4. 6. Resumen de análisis de varianza segregantes (Exóticos x NAP) F₂[§].

Estadísticos	PGER	PPE	PA
GL	3	3	3
GL error experimental	9	9	9
SC REP	22.8	3.9	11.3
SC GEN	12	28.5	27.6
CM REP	7.6	1.3	3.8
CM GEN	4.0	9.5	9.2
CM error	5.41	2.54	2.47
F Calculada. REP	1.4	0.5	1.5
F Calculada. GEN	0.74	3.7	3.7
Significancia. REP	NS	NS	NS
Significancia. GEN	NS	NS	NS
Media General	94	4.7	3
CV	2.5	34.1	52.4
R²	41%	58%	64%

[§] PG: Por ciento de germinación, PPE: Por ciento de poliembrionía y PA: Por ciento de anormales.

Las matas (especímenes con dos o más plántulas por semilla) trasplantadas a campo de los cuatro genotipos sirvieron completamente al propósito de hacer los cruzamientos de un dialélico completo (6 cruza directas, 6 recíprocas y 4 incremento de los progenitores). Las progenies resultantes de estos cruzamientos fueron utilizadas para llevar a cabo la etapa tres de este trabajo.

Al contar con plantas adultas fructificantes en campo, se llevó a cabo la toma de datos para proyectar de manera preliminar la capacidad productiva de los cuatro genotipos F₂ bajo estudio. En el Cuadro 4.7., se consignan los valores promedio de cuatro variables de importancia económica-agronómica. En general, los cuatro genotipos segregantes mostraron buena capacidad productiva, poco acame y buena cobertura de mazorca, el rendimiento en mazorca a 15.5% de humedad fue de 12 a 15 t ha⁻¹. Si el índice de desgrane alto en extremo fuera 30%, el rendimiento de grano fuera, en promedio, de 9 t ha⁻¹.

En la Figura 4.1, se muestra una planta PE (dos plantas, provenientes de una solo semilla) con dos características agronómicas deseables, prolificidad produciendo 2 mazorcas en cada planta, lo cual pudiera indicar la capacidad de rendimiento de este tipo de plantas. Cabe señalar que las mazorcas maduraron primero y las plantas permanecieron verdes, conservando sus propiedades nutrimentales que bien pudieran usarse para fines pecuarios, o en su lugar, incorporarse al suelo para conservación y enriquecimiento del mismo.



Figura 4. 1. Planta PE mostrando prolificidad.

El análisis de varianza para las variables Rendimiento, Prolificidad y Mala cobertura se muestra en el Cuadro 4.8. Aunque no se detectó significancia estadística en ninguna de las variables, los estadísticos resultaron adecuados para Rend, con un CV < 10% y una R^2 superior a 60%. No se aplicó transformación alguna en el manejo de las variables ya que el estudio es preliminar.

Cuadro 4. 7. Promedios cosecha segregantes (Exóticos x NAP) F₂[§].

GEN	Rend	Ac R	Ac T	M Cob
GS6	12.6 ± 0.6	2.5 ± 0.7	0.0 ± 0.0	5.5 ± 4.9
GS7	13.3 ± 2.1	2.5 ± 0.7	0.5 ± 0.7	2.5 ± 0.7
GS8	15.2 ± 0.9	1.0 ± 1.4	0.5 ± 0.7	3.5 ± 3.5
GS9	11.9 ± 0.7	1.0 ± 1.4	1.0 ± 0.0	3.5 ± 0.7
Promedio General	13.2	3.8	3.5	1.0

[§] GEN = genotipos, Rend = Rendimiento, Ac R = Acame de raíz, Ac T= Acame de tallo, M Cob = Mala cobertura.

Cuadro 4. 8. Análisis de varianza en cosecha segregantes (Exóticos x NAP) F₂[§].

Estadísticos	Rend	Prolif	M Cob
GL	3	3	3
SC	10.2	172.4	9.5
CM	3.4	57.5	3.2
F Calculada	2.7	0.28	0.3
Significancia	NS	NS	NS
Media General	13.2	111.1	3.8
CV	9,4	12.8	82
R ²	67%	18%	20%

[§].Rend = Rendimiento, Prolif = prolificidad, M Cob = Mala cobertura.

Etapa Tres. Experimentos en invernadero aplicado a progenies derivadas de cruzamientos dialélicos por los genotipos segregantes (Exóticos x BAP) F₂ y (Exóticos x NAP) F₂

Los valores promedio correspondientes a las progenies de cruzamientos dialélicos en las variables de interés general, PG, PPE y PA, dentro del grupo segregante de BAP, aparecen en el Cuadro 4.9, y los del grupo segregante de NAP, en el Cuadro 4.10.

El PG en ambos grupos mostró valores generales superiores a 85% lo que sitúa a las progenies como materiales con potencial para un buen establecimiento de siembra. La variación dentro de cada grupo es baja, con desviaciones estándar

inferiores a 5%, sobresaliendo las progenies del grupo NAP con valores inferiores a 2.5%.

La característica PPE presentó información muy relevante. A nivel general, los dos grupos exhibieron una frecuencia promedio de poliembrionía ubicada entre 15 y 23%, varias veces mayor a 6.25% valor que corresponde a progenies F_2 , en función de la hipótesis de herencia de este carácter. En esta etapa, el mayor promedio corresponde al grupo BAP.

La generación de las progenies mencionadas corresponde al nivel F_3 , aunque estrictamente hablando no lo sean. Como se dijo en materiales y métodos, solamente plántulas PE obtenidas en F_2 se trasplantaron en campo para generar los cruzamientos dialélicos, de este modo el nivel generacional F_3 se obtuvo cruzando sólo plantas PE, por lo que se practicó un apareamiento preferencial entre iguales, es decir positivo.

Cuadro 4. 9. Valores promedio de progenies resultantes de cruzamientos dialélicos entre genotipos F₂, derivados de las cruza originales (Exóticos × BAP)[§].

GEN	PG	PPE	PA
GS1 × GS2	94.7 ± 2.3	31.6 ± 7.8	13.4 ± 3.1
GS1 × GS3	91.3 ± 3.1	24.9 ± 6.3	20.7 ± 11.7
GS1 × GS4	94.7 ± 3.1	22.4 ± 10.1	7.0 ± 4.3
GS1 × GS5	94.0 ± 0	22.7 ± 6.5	20.6 ± 3.3
GS2 × GS1	95.3 ± 3.1	7.0 ± 5.1	13.3 ± 3.2
GS2 × GS3	95.3 ± 1.2	35.0 ± 10.6	21.0 ± 5.6
GS2 × GS4	88.0 ± 3.5	36.3 ± 16.7	21.9 ± 10.0
GS2 × GS5	91.3 ± 10.3	33.1 ± 9.5	14.0 ± 3.6
GS3 × GS1	97.3 ± 1.2	22.6 ± 5.3	12.3 ± 10.6
GS3 × GS2	86.7 ± 9.2	13.2 ± 2.5	24.7 ± 2.6
GS3 × GS4	96.7 ± 2.3	10.4 ± 2.3	7.5 ± 4.2
GS3 × GS5	94.7 ± 3.1	32.4 ± 14.5	17.6 ± 4.5
GS4 × GS1	82.0 ± 20.9	26.1 ± 6.0	12.5 ± 8.2
GS4 × GS2	92.7 ± 4.6	22.5 ± 7.5	10.2 ± 6.6
GS4 × GS3	84.7 ± 6.4	27.0 ± 5.4	23.2 ± 8.9
GS4 × GS5	90.7 ± 4.2	37.1 ± 14.0	22.7 ± 12.4
GS5 × GS1	99.3 ± 1.2	4.7 ± 1.2	10.1 ± 1.9
GS5 × GS2	92.7 ± 5.0	19.6 ± 6.7	21.1 ± 6.5
GS5 × GS3	83.3 ± 8.3	11.7 ± 10.9	36.6 ± 11.0
GS5 × GS4	96.7 ± 2.3	12.3 ± 8.8	12.4 ± 5.5
T	99.3 ± 1.2	0 ± 0	8.0 ± 3.4
Promedio general	92.1	22.9	17.1
DE	4.9	9.6	7.2

[§] GEN: Genotipos, PG: Por ciento de germinación, PPE: Por ciento de poliembrionía, PA: Por ciento de anormales. T = Híbrido comercial AN-447.

Las progenies F₁, y en su momento las F₂ segregantes de las cruza origen (Exótico × BAP, ó × NAP) contienen 50% de germoplasma de cada progenitor de origen. En F₂ se propicia el primer ciclo de recombinación, generando variación genética, pero sin alterar la composición germoplásmica de 50%:50%. Por otra parte, al trasplantar a campo sólo plantas PE de las F₂ y desarrollar los cruzamientos entre los diferentes genotipos, se afecta la condición del apareamiento aleatorio, y da origen al apareamiento preferencial positivo, lo cual

impacta en gran medida a caracteres como la PE, que es de herencia mendeliana. Esta es la causa del incremento en la frecuencia de la poliembrionía en las progenies del dialélico de ambos grupos. Los matices y diferencias en ellos, son imputables a los fondos germoplásmicos y la penetrancia incompleta que acompaña a la PE (Rebolloza *et al.*, 2011).

Cuadro 4. 10. Valores promedio de progenies resultantes de cruzamientos dialélicos entre genotipos F₂, derivados de las cruas originales (Exóticos x NAP)[§].

GEN	PG	PPE	PA
GS6 #	96.0 ± 2.0	15.3 ± 3.0	13.2 ± 1.0
GS6 x GS7	96.7 ± 2.3	17.1 ± 8.3	9.0 ± 5.1
GS6 x GS8	95.3 ± 4.6	22.4 ± 3.5	7.6 ± 2.9
GS6 x GS9	90.7 ± 4.6	22.2 ± 4.8	17.7 ± 2.4
GS7 #	96.0 ± 2.0	11.1 ± 2.4	13.2 ± 2.9
GS7 x GS6	95.3 ± 3.1	22.4 ± 5.1	9.0 ± 6.2
GS7 x GS8	92.0 ± 4.0	19.6 ± 3.9	20.3 ± 7.1
GS7 x GS9	92.0 ± 5.3	12.9 ± 5.2	15.4 ± 6.1
GS8 #	96.0 ± 3.5	12.4 ± 7.2	5.5 ± 1.1
GS8 x GS6	98.7 ± 1.2	12.1 ± 1.9	10.1 ± 2.1
GS8 x GS7	97.3 ± 1.2	10.3 ± 2.2	12.3 ± 0.1
GS8 x GS9	94.7 ± 6.1	18.3 ± 4.0	11.4 ± 7.0
GS9 #	96.0 ± 5.3	24.3 ± 3.7	5.4 ± 2.9
GS9 x GS6	98.7 ± 2.3	18.8 ± 10.1	11.5 ± 1.3
GS9 x GS7	96.0 ± 4.0	3.5 ± 1.3	7.6 ± 2.4
GS9 x GS8	96.0 ± 2.0	20.2 ± 7.5	11.9 ± 8.2
T	96.7 ± 4.2	0.0 ± 0.0	2.8 ± 1.3
Promedio general	95.5	15.5	10.8
DE	2.2	6.8	4.5

[§] GEN: Genotipos, PG: Porcentaje de germinación, PPE: Porcentaje de poliembrionía, PA: Porcentaje de anormales.

La frecuencia de plántulas anormales (PA) en ambos grupos resultó superior a 10%, correspondiendo al grupo BAP la proporción más alta de defectos en la germinación. Como se señaló en la Etapa Dos, caso de los grupos segregantes F₂ de NAP, la PA fue igual o inferior a 5%, datos derivados de un

buen tamaño de muestra (960 semillas por genotipo). Sin embargo, en esta Etapa Tres, las progenies corresponden a cruzamientos preferenciales entre los diversos genotipos, dentro de cada grupo. Aquí, las progenies recibieron una dosis de germoplasma donde la fuente BAP ó NAP, depende el grupo de que se trate, duplica a los dos materiales exóticos en combinación.

Como ejemplo de lo anterior, tómesese la cruce GS1 x GS2, el primero está integrado por germoplasma Leopardo-BAP y el segundo por 30G59-BAP, es claro que la progenie de ellos, concentró 50% germoplasma de BAP, 25% de Leopardo y 25% de 30G59, esta dosis superior de BAP debe influir positivamente en el monto de la PE, que en este caso alcanzó frecuencia promedio de 31%. Un caso similar en el grupo NAP es GS6 x GS8, que representan dosis de germoplasma Leopardo-NAP en cruce con Oso-NAP, la progenie se integró con 50% de germoplasma NAP, 25% de Leopardo y 25% de Oso, y que presentó un valor de 22% de PE. Sin embargo, el efecto positivo en PE de la dosis mayoritaria de germoplasma, sea de BAP o NAP, también pudiera influir negativamente, incrementando la proporción de anormalidades (PA) en la germinación.

Por el contrario, tómesese el caso de GS5 x GS1, la progenie de esta cruce concentró 50% germoplasma BAP, 25% de Tuxpeño y 25% de Leopardo, pero mostró una frecuencia PE de sólo 5%. Casos excepcionales como este y el de GS9 x GS7 (grupo NAP) el cual presentó una PE de 3.5%, pueden ser un reflejo de la combinación de germoplasmas cuya interacción propicia la capacidad de obstruir la expresión de la PE. A pesar de estos, el monitoreo de la segregación de este mutante al nivel equivalente de F₃, con apareamiento entre iguales

poliembriónicos, permiten suponer una fácil recuperación del carácter, en fondos genéticos diferentes, que eventualmente puedan utilizarse en probables combinaciones exitosas con fines agronómicos.

Los datos que presentaron los mencionados casos excepcionales se sometieron a una prueba de Ji cuadrada para la hipótesis 15 planta normal: es a 1 planta PE sin rechazarla, es decir que sus valores se ajustan a la segregación esperada en F_2 , y no al incremento de 200 a 500% que se observaron en la gran mayoría de los otros cruzamientos. Es interesante hacer notar que las cruzas recíprocas de los mismos tres materiales multicitados exhibieron una PE superior a 12%, lo que pudiera considerarse una capacidad de estos genotipos de mostrar respuesta de efectos recíprocos. A pesar de lo publicado por Musito *et al.* (2008) quienes no detectaron efectos recíprocos en estudios previos sobre la transmisión de la PE en familias de medios hermanos en las poblaciones BAP y NAP, por lo que los resultados de esta investigación pueden tomarse como el primer indicio de efectos recíprocos, al menos en la obstrucción para la expresión de la PE.

Los análisis de varianza, relativos a PG, PPE y PA para los dos grupos de cruzamientos dialélicos aparecen en los Cuadros 4.11 y 4.12. La PG no presentó diferencias estadísticas ($P \geq 0.05$) entre genotipos en BAP ni NAP, es decir, que la germinación fue buena, arriba de 90% y se presentó con poca variación dentro y entre genotipos.

Es relevante el hecho de que en los dos grupos, las variables PPE y PA presentaron diferencias estadísticas entre genotipos ($P \leq 0.05$ ó 0.01), lo que

indica que al menos uno de ellos en cada grupo difiere significativamente de los demás en la expresión de estas variables. De hecho, en lo concerniente a PPE del grupo NAP varias de las cruzas presentaron frecuencias PE de 10 a 24%, estadísticamente iguales pero uno de ellos resultó significativamente menor (Tukey, $\alpha = 0.05$, DMS = 15.3) a aquellos con valores de 19 a 24%. En el grupo BAP, se presentó una situación similar, varias de las cruzas presentaron valores de 10 a 37%, estadísticamente iguales, pero dos se ubicaron entre 5 y 7%, significativamente menores (Tukey, $\alpha = 0.05$, DMS = 28.01) a aquellos con valores de 33%.

Cuadro 4. 11. ANVA para los cruzamientos dialélicos del grupo segregantes de (Exóticos x BAP) F_2^{\S} .

Estadísticos	PG	PPE	PA
GL	19	19	19
SC	1350.1	5706.6	3152.6
CM	71.1	300.3	165.9
F Calculada	1.63	1.9	3.1
Significancia	NS	*	**
Media General	92.1	24.3	16.9
CV	7.2	51.2	43.2
R ²	44%	48%	60%

[§] PG: Por ciento de germinación, PPE: Por ciento de poliembrionía, PA: Por ciento de anormales.

Cuadro 4. 12. ANVA para los cruzamientos dialélicos del grupo segregantes de (Exóticos x NAP) F₂[§].

Estadísticos	PG	PPE	PA
GL	15	15	15
SC	224.6	1445.5	763.6
CM	15	96.4	50.9
F Calculada	1.1	3.5	2.59
Significancia	NS	**	*
Media General	95.4	16.4	11.3
CV	3.8	31.8	39.1
R ²	34%	62%	55%

[§] PG: Por ciento de germinación, PPE: Por ciento de poliembrionía, PA: Por ciento de anormales.

Mediciones en plántula

Una vez determinadas las variables de interés general (PG, PPE y PA) en las diferentes progenies de las cruza dialélicas, grupos BAP y NAP, se tomaron dos muestras aleatorias de 12 plántulas del tipo PE y 12 de No-PE, con la finalidad de medir algunas variables características de plántulas a 14 días de edad.

Los resúmenes de los valores promedio de las variables de plántulas del grupo BAP, sean de naturaleza PE o Individual se presentan en el Cuadro 4.13 y Cuadro 4.14., respectivamente. Es importante hacer notar que las variables Cole y Radi son atributos solamente de las plántulas PE, ya que están asociadas a la poliembrionía. Los resultados que contiene el Cuadro 4.13., son acordes a lo publicado por Espinoza et al. (2012) quienes señalan que las radículas múltiples pueden presentarse en las progenies PE en frecuencias de 12 a 16%.

Las variables NH y RC se presentaron en números promedio de 1 a 2 y de 3 a 5 respectivamente, sin establecer diferencias con respecto a la naturaleza PE o Individual. En la práctica, las semillas de maíz común germinan en una plántula, con un crecimiento y desarrollo característico que supera comúnmente a la

velocidad con que crecen las plántulas PE (José Espinoza Velázquez, comunicación personal). Los resultados de este trabajo, donde las semillas de todos los genotipos se hicieron germinar en charolas (sustrato-suelo en cantidad limitada), no manifestaron diferencias entre los grupos PE vs los Individuales, y además, todos parecen iguales al desarrollo de las plántulas del testigo.

Cuadro 4. 13. Medidas de plántulas de naturaleza PE, de cruzas dialélicas del grupo BAP.

GEN	Cole	NH	Radi	RC
GS1 x GS2	1,0	1,0	1,0	3,5
GS1 x GS3	1,1	1,9	1,1	3,9
GS1 x GS4	1,2	1,9	1,0	4,1
GS1 x GS5	1,1	2,0	1,0	3,4
GS2 x GS1	1,0	1,5	1,0	4,0
GS2 x GS3	1,2	1,7	1,0	3,6
GS2 x GS4	1,0	1,9	1,0	4,1
GS2 x GS5	1,2	1,9	1,0	3,8
GS3 x GS1	1,0	1,4	1,0	3,7
GS3 x GS2	1,3	1,6	1,0	3,2
GS3 x GS4	1,1	1,8	1,0	3,6
GS3 x GS5	1,1	2,1	1,2	4,3
GS4 x GS1	1,0	2,3	1,2	4,3
GS4 x GS2	1,2	2,0	1,0	4,4
GS4 x GS3	1,0	1,2	1,1	5,2
GS4 x GS5	1,1	2,0	1,1	4,9
GS5 x GS1	1,3	2,1	1,0	3,9
GS5 x GS2	1,3	1,6	1,0	3,8
GS5 x GS3	1,1	1,3	1,2	5,2
GS5 x GS4	1,0	2,1	1,0	4,4
T	1,0	1,3	1,0	3,8

GEN = genotipos cruza del dialélico, Cole = Número de coleóptilos, NH = Número de hojas, Radi = Número de Radículas y RC = Raíces de Corona.

Cuadro 4. 14. Medidas de plántulas de naturaleza individual, de cruzas dialélicas del grupo BAP.

GEN	Cole	NH	Radi	RC
GS1 x GS2	1,0	1,2	1,0	3,2
GS1 x GS3	1,0	1,6	1,0	3,5
GS1 x GS4	1,0	1,7	1,0	3,7
GS1 x GS5	1,0	1,7	1,0	3,9
GS2 x GS1	1,0	1,3	1,0	4,0
GS2 x GS3	1,0	1,7	1,0	4,2
GS2 x GS4	1,0	1,6	1,0	4,0
GS2 x GS5	1,0	1,9	1,0	4,1
GS3 x GS1	1,0	1,6	1,0	3,7
GS3 x GS2	1,0	2,0	1,0	3,8
GS3 x GS4	1,0	1,8	1,0	3,9
GS3 x GS5	1,0	1,8	1,0	4,3
GS4 x GS1	1,0	1,3	1,0	3,6
GS4 x GS2	1,0	2,0	1,0	4,4
GS4 x GS5	1,0	1,9	1,0	3,8
GS4 x GS3	1,0	1,3	1,0	4,4
GS5 x GS1	1,0	1,8	1,0	4,4
GS5 x GS2	1,0	2,0	1,0	4,0
GS5 x GS3	1,0	1,7	1,0	4,7
GS5 x GS4	1,0	1,8	1,0	4,1
T	1,0	1,3	1,0	3,8

GEN = genotipos cruzas del dialélico, Cole = Número de coleoptilos, NH = Número de hojas, Radi = Número de Radículas y RC = Raíces de Corona.

Los valores promedio de las variables Cole, NH, Radi y RC correspondientes a los genotipos del dialélico del grupo NAP, sean del tipo PE o Individuales, aparecen en los Cuadros 4.15 y 4.16 respectivamente. Los resultados fueron muy similares a los detectados en el caso del grupo BAP por lo que se puede establecer que el manejo de siembras en charolas de germinación (200 cavidades) permite un desarrollo de plántulas de 1 a 2 hojas verdaderas (seminales), de 3 a 6 raíces de corona o nodulares, iniciando de esta manera el desarrollo del sistema radical definitivo de la planta (Ritchie *et al.*, 1992).

Cuadro 4. 15. Medidas de plántulas de naturaleza PE, de cruzas dialélicas del grupo NAP.

GEN	Cole	NH	Radi	RC
GS1	1.1	1.4	1.0	4.2
GS1 x GS2	1.2	1.6	1.0	4.7
GS1 x GS3	1.2	1.3	1.0	3.8
GS1 x GS4	1.1	1.6	1.0	4.6
GS2	1.0	1.6	1.0	3.9
GS2 x GS1	1.7	1.7	1.3	6.1
GS2 x GS3	1.0	1.1	1.0	4.4
GS2 x GS4	1.1	1.4	1.0	3.9
GS3	1.1	1.5	1.0	4.2
GS3 x GS1	1.0	1.5	1.0	3.4
GS3 x GS2	1.0	1.7	1.0	3.7
GS3 x GS4	1.1	1.4	1.1	3.0
GS4	1.0	1.4	1.0	2.9
GS4 x GS1	1.0	1.5	1.0	3.3
GS4 x GS2	1.0	1.5	1.0	3.3
GS4 x GS3	1.0	2.2	1.0	3.4
T	1.0	1.5	1.0	4.7

GEN = genotipos cruzas del dialélico, Cole = Número de coleoptilos, NH = Número de hojas, Radi = Número de Radículas, y RC = Raíces de Corona.

Cuadro 4. 16. Medidas de plántulas de naturaleza individual, de cruzas dialélicas del grupo NAP.

GEN	Cole	NH	Radi	RC
GS1	1	1.8	1	4.1
GS1 x GS2	1	2.0	1	4.4
GS1 x GS3	1	1.7	1	3.8
GS1 x GS4	1	1.8	1	4.2
GS2	1	2.0	1	4.2
GS2 x GS1	1	1.9	1	4.0
GS2 x GS3	1	1.8	1	4.7
GS2 x GS4	1	2.0	1	4.5
GS3	1	1.8	1	4.3
GS3 x GS1	1	1.7	1	4.2
GS3 x GS2	1	1.8	1	3.7
GS3 x GS4	1	1.9	1	4.1
GS4	1	2.0	1	3.4
GS4 x GS1	1	1.8	1	3.5
GS4 x GS2	1	1.9	1	3.3
GS4 x GS3	1	1.8	1	3.6
T	1	1.5	1	4.7

GEN = genotipos cruzas del dialélico, Cole = Número de coleoptilos, NH = Número de hojas, Radi = Número de Radículas y RC = Raíces de Corona.

Los análisis de varianza para detectar diferencias entre genotipos, integrando los datos de naturaleza PE e Individuales del grupo BAP, aparecen en el Cuadro 4.17., y los del grupo NAP en el Cuadro 4.18. En términos generales, los genotipos (cruzamientos dialélicos) del grupo NAP se presentaron más homogéneos con respecto a las cuatro variables analizadas. Por otra parte, en el grupo BAP tres de las cuatro variables (excepto Radi) presentaron diferencias estadísticas entre genotipos. Por demás interesante, el hecho de la variable Cole, asociada sólo a los casos PE, se pudo detectar a genotipos que presentan un alto número de coleoptilos múltiples en el proceso de germinación. Esta condición en los genotipos pudiera favorecer una mejor emergencia de las plántulas múltiples en el proceso de germinación.

Cuadro 4. 17. Análisis de varianza de los genotipos, cruza dialélicas, del grupo BAP, incluyendo las dos versiones: PE e Individuales.

Estadísticos	Cole	NH	Radi	RC
GL	40	40	40	40
SC	0.7	7.3	0.2	17
CM	0.02	0.18	0.01	0.4
F Calculada	2.46	5.8	0.9	2
Significancia	**	**	NS	*
Media General	1.1	1.7	1	4
CV	7.7	10.3	7.8	11.6
R ²	71%	85%	47%	66%

[§] Cole = Número de Coleoptilos, NH = Número de hojas, Radi = Número de Radículas y RC = Número de raíces de corona.

Cuadro 4. 18. Análisis de varianza de los genotipos, cruza dialélicas, del grupo NAP, incluyendo las dos versiones: PE e Individuales.

Estadísticos	Cole	NH	Radi	RC
GL	32	32	32	32
SC	0.26	3.7	0.02	16.3
CM	0.01	0.12	0.001	0.5
F Calculada	1.3	0.82	1	1.53
Significancia	NS	NS	NS	NS
Media General	1.03	1.7	1	3.9
CV	7.7	22.5	2.5	14.7
R ²	55%	44%	49%	60%

[§] Cole = Número de Coleoptilos, NH = Número de hojas, Radi = Número de Radículas y RC = Número de raíces de corona.

La condición de un número mayor de hojas en determinada etapa de crecimiento pudiera significar una mayor capacidad de la plántula para generar fotosintátos y apoyar de manera más exitosa el establecimiento en campo. Los análisis en el NH mostraron que ciertas combinaciones genotípicas presentaron superioridad en el número de esta característica, de hecho, el genotipo con el número promedio más alto en NH fue el identificado como GS4 x GS1 del grupo PE, así como su recíproca GS1 x GS4 PE. Esto documenta la capacidad de ciertas combinaciones germoplásmicas con la característica PE para presentar ventajas para el crecimiento y desarrollo de las plantas juveniles.

V. CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo, bajo el manejo experimental aplicado, permiten establecer las siguientes conclusiones.

Las poblaciones poliembriónicas (PE) de maíz desarrolladas por el Instituto Mexicano del Maíz, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en la sede Saltillo, son fuente segura de la variante mutante PE. Las poblaciones se denominan IMM-UAAAN-BAP, porte enano, e IMM-UAAAN-NAP, porte normal.

El aprovechamiento con fines agronómicos de esta versión de PE se puede reflejar cuando se llevan a cabo una serie de combinaciones germoplásmicas de BAP y NAP con materiales completamente ajenos a ellas (Exóticos), las cuales pueden ser: poblaciones, líneas endogámicas, variedades de cualquier tipo e híbridos comerciales. Las progenies F_1 en cualquiera de las cruzas BAP o NAP x Exótico son fenotípicamente normales, No-PE. Las F_2 , presentan fenotipos normales y PE, en proporciones de alrededor de 15:1, Normales-No PE, poliembriónicos PE. En este trabajo se pudo corroborar la validez de este control genético de la PE.

La utilización de diferentes fuentes Exóticas en cruzamiento con cualquiera de las dos poblaciones PE, permiten recuperar plenamente a genotipos con PE, situada ésta en fondos germoplásmicos distintos, contribuyendo a la variabilidad genética de los maíces PE.

Es posible desarrollar el método de recuperación y usos de esta PE, genéticamente diversa, por la vía de cruzamientos entre fuentes Exóticas x Poblaciones PE, alcanzar la F_2 , incrementar a ésta por apareamientos sólo entre

plantas PE del mismo grupo genotípico, lograr progenies de nivel F_3 , pero provenientes de apareamiento preferencial positivo, para de este modo incrementar rápidamente la proporción de plantas PE, duplicando y hasta quintuplicando la proporción PE en comparación de la lograda en F_2 .

La generación de diversos grupos genotípicos de maíz PE pueden formar una base genéticamente amplia para utilizarse en la derivación de líneas y variedades con alta frecuencia poliembriónica, con el valor agregado de la calidad nutrimental del grano (más ácidos grasos, más lisina), la cual está asociado a la PE.

VI. LITERATURA CITADA

- Castro G., M.E.** 1979. Estudio sobre herencias y valores nutritivos de semillas con doble embrión, Avances de investigación en maíz. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista. Coah. México. pp. 24 - 25.
- Clark, D., J.W. Dudley, T.R. Rocheford., J.R. Le Deaux.**2006. Genetic analysis of corn kernel chemical composition in the random mated 10 generation of the cross generations 70 of IHO x ILO. Crop Sci. 46: 807-819.
- Doebley, J.** 2003. The Taxonomy of Zea Laboratory of Genetics University of Wisconsin-Madison <http://teosinte.wisc.edu/taxonomy.html>. 3/03/2013
- Espinosa A.,** 2005. Los Maíces de Calidad Proteínica.10 p.
- Espinoza J., Vega. MC., Navarro. E., Burciaga. G.A.,** 1998. Poliembriónía en maíces de porte normal y enano. Agronomía Mesoamericana. 9 (2): 83-88.
- Espinoza V., J. y M.C. Vega.** 2000. Maíces de alta frecuencia poliembriónica. En: Memoria del XVIII Congreso Nacional de SOMEFI. Irapuato, Guanajuato, México.15 al 20 de octubre, 2000. pp. 106-108.
- Erdelska O, Z Vidovencova** 1992. Cleavage Polyembryony in maize. Sex. Plant Reprod. 5:224-226.
- Espinoza. J., L. Valdez., M. Gonzalez., V., N. Musito., E. J. Gallegos., J. Sánchez., G. A. Villareal., M. J. Alcalá.,** 2006 (publicado 2008).Estudios genéticos sobre la poliembriónía en maíz. Análisis Retrospectivo. Instituto Mexicano del Maíz, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. pp 5-7

- Feed & Grain.** 1998. La influencia del maíz alto en aceite en los alimentos para aves. Revista para fabricantes de alimentos balanceados, operaciones integradas y procesadores de grano. ISSN 1085-0503. Johnson Hill Press. Cygnus Publishing, Inc. Fort Atkinson, WI. USA. pp 4-7.
- Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura, FIRA.** 2012. Panorama Agroalimentario, Maíz 2012. Dirección de Investigación Económica y Sectorial. Documento elaborado por Salvador Darío Gaucín Piedra, 3-22 pp. México.
- González. V.M., V.J Espinoza., R.V. Mendoza., H. C. De León., Ma. T. Torres.** 2011. Caracterización de Germoplasma de Maíz que Combina un Alto Contenido de Aceite Y Poliembriónía. Universidad y Ciencia Trópico Húmedo. Instituto Mexicano del Maíz-UAAAN. Departamento de Ciencias Básicas-UAAAN. Coahuila, México. pp 159-164.
- Kermicle, J.L.** 1969. Androgenesis conditioned by a mutation in maize. *Science*, 166: 1422-1424.
- Lambert, R.J.** 2001. High - oil hybrids. In A. R. Hallauer (ed.) Specialty corns. CRC Press, Boca Raton, FL. Pp 131-154
- Musito, R.N., J. Espinoza V., V.M. González V., J.E. Gallegos S., H. De León C.** 2008. Características de plántulas en familias derivadas de una población de maíz poliembriónico. Rev. Fititec. México. Vol. 31 (4): 399-402.
- Paliwal, L.R.** 2001.El maíz en los trópicos: Mejoramiento y Producción. ISSN. 1014-3041.

- Pesev, N.R., Petrovic, LjZecevic & M. Milosevic.** 1976. Study of possibility in raising maize in breed lines with two embryos. Theor. Appl. Genet. 47: 197-201
- Pilu, R.** 2000. "The twin triat maize" Maize Genetics Cooperation Newsletter.74:51.
- Rebolloza H, H, J Espinoza Velázquez, D Sámano Garduño, V. M. Zamora Villa.** 2011. Herencia de la Poliembrionía en dos Poblaciones Experimentales de Maíz. Revista Fitotecnia Mexicana, Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C. Chapingo, México pp. 28-33.
- Ritchie, S.W. Hanaway, J.J. y Benson, G.O.,** 1992. How a corn plant develops. Specialreport No. 48. Iowa State University. Ames, IA, USA.
- Rodríguez, H., S.A.** 198.Determinación de la heredabilidad y efectos de la selección para el carácter doble embrión en maíz (*Zea mays* L.). Tesis Lic. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. México. 48p.
- Sánchez L, J.** 2000. Estudio Citogenético en Dos Poblaciones de Maíz (*Zea mays* L. Poliembriónico). Tesis en Ingeniero Agrónomo en Producción. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Sánchez Rodríguez, G, F A Martínez Mendoza, L A López Ibarra.** 1998. Oportunidades de Desarrollo del Maíz Mexicano. FIRA, Boletín Informativo. Núm. 309. Volumen XXX. 88p. Morelia, Mich., México.
- SAS Institute Inc.** 1989. SAS/STAT User's Guide. Version 6. Fourth Edition. SAS Institute Inc. Cary. N.C.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.

(SAGARPA) 2010. http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/Estudios_promercado/GRANOS.pdf 10 de enero del 2012.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación

(SAGARPA) 2007. http://sagarpa.gob.mx/cgcs/boletines/2007/agosto_conferencia_070807.PDF 24 de enero del 2012.

Servicio a la Información Agroalimentaria y Pesquera. (SIAP). 2012.

http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=51&Itemid=381 apartado: situación y perspectiva del maíz 1996-2012. 24 de enero de 2013.

Thomison P.R., A.B. Geyer, L.D. Lotz, H.J. Siegrist, and T.L.

Dobbels.2003.TopCross high oil corn production: Select grain quality attributes. Agron.J. 95:147-154.

Valdez L, P L. 2005. Ganancia en calidad nutrimental del grano como respuesta

asociada a la selección para poliembrionía en maíz. Tesis de Maestría en Ciencias en Fitomejoramiento. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 92 pp.

Vasal, S.K. 1994. High quality protein corn. In A. R. Hallauer, ed. Specialty corns.

Boca Raton, FL, USA, CRC. Press. p. 79-121.

Citas de internet

Consulta: 2012, <http://www.conricyt.mx>

Consulta: 2013, <http://genmolecular.wordpress.com/mecanismos-de-interacción-genica/>

Consulta: http://www.oardc.ohio-state.edu/hocorn/weiss_research.htm