

CALIDAD FÍSICA, FISIOLÓGICA Y BIOQUÍMICA EN GENOTIPOS DE MAÍZ QUE COMBINA POLIEMBRIONÍA Y ALTO CONTENIDO DE ACEITE

ENEIDA MORA MATA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN TECNOLOGIA
DE GRANOS Y SEMILLAS**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
AGRARIA ANTONIO NARRO**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, Octubre, 2011

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

CALIDAD FÍSICA, FISIOLÓGICA Y BIOQUÍMICA EN GENOTIPOS DE MAÍZ
QUE COMBINA POLIEMBRIONÍA Y ALTO CONTENIDO DE ACEITE

TESIS

POR:
ENEIDA MORA MATA

Tesis elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de Asesoría y
aprobada por el mismo como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN TECNOLOGIA
DE GRANOS Y SEMILLAS

Comité Particular de Asesoría

Asesor Principal


MP. Ma. Alejandra Torres Tapia

Asesor


Dr. Victor Manuel Zamora Villa

Asesor


MC. Federico Facio Parra

Asesor


Dr. José Espinoza Velásquez


Dr. Fernando Ruíz Zárate
Subdirector de Posgrado

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por haberme permitido realizar mis estudios, a todos mis maestros que participaron en mi formación.

A la M.P. María Alejandra Torres Tapia por su asesoramiento y principal apoyo en la realización de este trabajo de investigación.

A Dr. Víctor Manuel Zamora Villa por su gran aportación y sugerencias en el desarrollo de este trabajo.

Al M.C. Federico Facio Parra por su disponibilidad e interés en la elaboración de este trabajo.

Al Dr. José Espinoza Velázquez por sus valiosos conocimientos aportados en este trabajo de investigación.

DEDICATORIA

A mis padres Sr. Lorenzo Mora García y Sra. Evilia Mata García por darme la vida y por ser ejemplo a seguir en mi superación.

A mis hermanos Yesenia Mora Mata y L. Miguel Mora Mata por su apoyo incondicional que siempre me han brindado.

A Mabel Mora Gerónimo por su comprensión, paciencia y apoyo incondicional.

A Luis Félix Mora Gerónimo por aceptarme en su linda familia, gracias.

Pero sobre todo dedico este trabajo a mi hijo Ángel Gabriel Sánchez Mora por ser la principal razón de mi superación y por llenar de alegría mi vida.

A todos mis amigos, a cada uno de ellos gracias por brindarme su apoyo y amistad.

COMPENDIO

Calidad Física, Fisiológica y Bioquímica en Genotipos de Maíz que Combina Poliembrionía y Alto Contenido de Aceite

**POR
ENEIDA MORA MATA**

**MAESTRÍA PROFESIONAL EN
TENOLOGIA DE GRANOS Y SEMILLAS**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO. OCTUBRE 2011**

MP. MARIA ALEJANDRA TORRES TAPIA--ASESOR-

Palabras claves: *Zea mays* L., genotipos, cariopsis, geminación, vigor, proteínas, electroforesis.

La mayor utilización del maíz es como alimento ya sea de uso pecuario o humano, en los últimos años se ha incrementado la utilización en procesos industriales, lo que genera la necesidad de contar con maíces especializados de acuerdo al uso que se pretenda. Cuando la semilla de maíz presenta más de un embrión ocurre el fenómeno de poliembrionía que influye en la calidad del grano; por lo dicho anteriormente el presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de ensayos de semillas de la Universidad Autónoma Agraria

Antonio Narro, sede en Saltillo, Coah. Se evaluaron 24 genotipos de maíz con características poliembriónicas y alto contenido de aceite, en su atributo de calidad física (Peso Volumétrico, Contenido de Humedad y Peso de Mil Semillas), fisiológica (germinación y vigor) y bioquímica (tipo y cantidad de proteínas) entablando una relación entre las variables en estudio. Los resultados se analizaron en un diseño completamente al azar con tres repeticiones y con prueba de comparación de medias (DMS, $\alpha = 0.05$), indicando que en la calidad física mediante PV, los genotipos 15 y 16 fueron los mejores y los más altos en CH, mientras que los genotipos 1, 4 y 23 obtuvieron los valores más bajos; en PMS presentaron mayor peso los genotipos 4, 6, 10 y 14. En la calidad fisiológica los genotipos 6, 9, 10, 15, 23 y 24 presentaron el mayor porcentaje de plántulas normales, sobresaliendo los genotipos 12, 13 y 23 por conservar su porcentaje después de un envejecimiento acelerado. Los genotipos 1, 4, 16 y 17 presentaron el mayor porcentaje de PE antes y después de un envejecimiento, destacando los genotipos 2 y 6 por presentar los mayores porcentajes después de un envejecimiento. En la calidad bioquímica en el CP, los genotipos 14, 15, 16, 17 y 18 presentaron la mayor concentración de albúmina, algunos genotipos con altos porcentaje de poliembriónía no resultaron con altas concentraciones en esta proteína; en el contenido de globulina los mejores fueron el 5, 8, 9, 15 y 18; en el contenido de zeínas se encontraron en los genotipos 4, 8, 9 y 10; y por último los mayores contenidos de glutelina fueron los genotipos 10, 16, 17 y 18, siendo esta proteína la de mayor contenido y presencia en todos los materiales evaluados. La relación en cuanto al tipo y contenido de proteína de los genotipos, destaca que el genotipo 10 presentó las cuatro tipos de proteínas y tuvo mayor calidad fisiológica en germinación; en el caso del genotipo 14 presentó altos contenidos de albumina, globulina y glutelina lo cual se reflejó en la alta calidad fisiológica en germinación aunque disminuye después de un envejecimiento acelerado. Por otra parte, los genotipos 15, 16, 17 y 18 mantuvieron su calidad fisiológica antes y después del envejecimiento ubicados en un primer grupo estadístico en por sus contenidos de albúmina, globulina y glutelina.

ABSTRACT

**Physical, Physiological and Biochemical Quality in Genotypes of
Polyembryonic Maize**

**By
ENEIDA MORA MATA**

MASTER

GRAIN AND SEED TECHNOLOGY

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO, OCTOBER 2011**

MP. MARIA ALEJADRA TORRES TAPIA--ADVISOR—

Key words: *Zea mays* L., genotypes, cariopsis , germination, vigour, proteins, electrophoresis.

Today are improvement programs about corn crop at some public and privates institutes whose goals are to contribute to full development of country and its regions. This programs are generated by different institutes, as University UAAAN, through of Instituto Mexicano del Maíz “Dr. Mario E. Castro Gil” (IMM), that along several years have generated corn crops with features different of nutritional value, yield and percentage with polyembryony of normal

and dwarf size, by this reason is important to determine the seed quality of these populations, the present study it was made with objective of to evaluate 24 corn genotypes with polyembryonic features and oil content, in his physical quality Volumetric Weight, Moisture Content and One Thousand Seed Weight (VW, MC and OTSW), physiological (Vigour and Germination) and biochemical (kind and quantity of albumin, globulin, zein y glutelin), making a relation between variables studied. The results obtained were analyzed with a completely ly random design with three replications and also it was made the LSD mean comparison test, with the SAS program. The results indicated that in physical test of WV the genotypes 15 and 16 were the best, while for MC the higher genotypes the 1, 4 and 23 and genotypes 4,6,10 and 14 presented higher weight about OTSW. Genotypes 6, 9, 10, 15, 23 and 24 presented 100 % normal plants (NP) in germination test, after accelerated ageing test, genotype 23 showed the same percentage and with 100 % of NP were genotypes 12 and 13. Genotypes 1, 4, 16 and 17 presented higher polyembryony in capacity of germination before and after of ageing, with genotypes 2 and 6 with highest percent in accelerated ageing test. In protein content, genotypes 14, 15, 16, 17 and 18 were higher in albumin concentration; while genotypes with polyembryony high did not were high in this protein. About globulin content the best were genotypes 5, 8, 9, 15 and 18. For zein, it was less quantity in genotypes and the only with this protein were genotypes 4, 8, 9 and 10; At the end are genotypes with glutelin high, that it was the protein more present in all evaluated materials outstanding genotypes 10, 16, 17 and 18. There is a relation about kind and content of protein in genotype 10, that presented the four protein types with physiological quality in germination test; genotype 14 presented high content of albumin, globulin y glutelin in germination test showing his good quality but it was injured for accelerated ageing, and genotypes 15, 16, 17 and 18 preserved their quality before and after ageing, placing them at first statistical group in albumin, globulin and glutelin.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Páginas
ÍNDICE DE CONTENIDO	ix
Índice de cuadros.....	x
Índice de figuras.....	xii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
Importancia y producción de maíz	6
Mejoramiento genético de maíz.....	7
Proteína en embrión-endospermo	9
Calidad de la Semilla	14
Selección de materiales a través de pruebas de calidad.....	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
V. CONCLUSIONES.....	60
RESUMEN.....	64
LITERATURA CITADA	66

Índice de cuadros

Cuadro 3.1 Descripción e identificación de los genotipos de maíz poliembriónico, de alto aceite y material comercial.	23
Cuadro 3.2 Soluciones para la preparación de geles, de corrida y concentrador en la prueba de electroforesis vertical.	32
Cuadro 4.1 Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza para calidad física en cada una de las variables evaluadas en genotipos de maíz con porcentaje de poliembriónía y contenido de aceite.....	35
Cuadro 4.2 Resultado de la comparación de medias de las diferentes variables evaluadas para calidad física en genotipos de maíz con porcentaje de poliembriónía y contenido de aceite	37
Cuadros 4.3 Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza de las variables evaluadas en la prueba capacidad de germinación de los genotipos de maíz con porcentaje de poliembriónía y contenido de aceite.	38
Cuadro 4.4 Comparación de medias de las variables evaluadas en la prueba capacidad de germinación de los genotipos de maíz con porcentaje de poliembriónía y contenido de aceite.	41
Cuadro 4.5 Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza para las variables evaluadas en la prueba de vigor de los genotipos de maíz con porcentaje de poliembriónía y contenido de aceite.....	42
Cuadro 4.6 Comparación de medias de las variables evaluadas en la prueba de vigor de los genotipos de maíz con porcentaje de poliembriónía y contenido de aceite.....	43
Cuadro 4.7 Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza para las variables evaluadas en la prueba de envejecimiento acelerado de los genotipos de maíz con porcentaje de poliembriónía y contenido de aceite... ..	45
Cuadro 4.8 Comparación de medias de las variables evaluadas en la prueba de envejecimiento acelerado de los genotipos de maíz con porcentaje de poliembriónía y contenido de aceite.	46

Cuadro 4.9 Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza para las variables LMP, LMR y PS en la prueba de envejecimiento acelerado de los genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite...	48
Cuadro 4.10 Comparación de medias de las variables LMP, LMR y PS en la prueba de envejecimiento acelerado de los genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite.	49
Cuadro 4.11 Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza para las variables evaluadas en la prueba bioquímica de los genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite.....	51
Cuadro 4.12 Comparación de medias de las variables evaluadas en la prueba bioquímica de los genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite.....	52
Cuadro 4.13 Coeficiente de correlación de variables con los factores, eigenvalores y varianza explicada para los genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite.	58

Índice de figuras

Figura 4.1 Albuminas en gel de SDS-PAGE en genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite.	54
Figura 4.2 Globulinas en gel de SDS-PAGE en genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite.	55
Figura 4.3 Zeína en gel de SDS-PAGE en genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite.	56
Figura 4.4 Glutelinas en gel de SDS-PAGE en genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite.	57
Figura 4.5 Relación entre variables estudiadas con base a los factores en estudio (físico, fisiológico y bioquímico).	59
Figura 4.6 Relación entre genotipos estudiados con base a los factores en estudio (físico, fisiológico y bioquímico).	60

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de maíz a nivel mundial puede destinarse hacia dos fines principales: en algunos países como México y en otros en vías de desarrollo constituye un cultivo de mayor importancia económica y social como es en la dieta de la población; mientras que en los países desarrollados éste es utilizado principalmente como alimento forrajero, así como en otros procesos industriales, del cual se obtienen materias primas y productos finales (Olvera *et al.*, 1996; Reyes, 1990).

Entre los cultivos de cereales en el mundo, el maíz ocupa el segundo lugar después del trigo en cuanto a producción y el tercero con el arroz molido, sin embargo, entre las economías de las naciones en desarrollo, el maíz ocupa el primer lugar en Latinoamérica y África y el tercero después del arroz y el trigo en Asia. En todo el mundo el maíz es el más ampliamente sembrado en cuanto a cereales se refiere (Olvera *et al.*, 1996).

El ascenso que presenta la producción maicera obedece a la diversidad de aplicaciones que se le han encontrado a las partes constitutivas del grano. Lo que a su vez se utiliza en la elaboración de cientos de productos de aceptación generalizada y por lo tanto de importancia económica.

El desarrollo de líneas y la identificación de las mejores combinaciones híbridas con base en el potencial de rendimiento determinan el éxito de un programa de mejoramiento genético y este a su vez tiene una papel importante en un

programa de producción de semillas, por ser considerado parte de los componentes de la calidad en la semilla, junto con las características fisiológicas en términos de viabilidad y vigor, físicas y sanitarias, los cuales pueden contribuir a predecir el establecimiento y producción de materiales sobresalientes con altos índices de calidad, así como un manejo adecuado del cultivo (Popinigis, 1985); existe una asociación entre estos componentes de calidad y los caracteres de campo, haciendo más amplia la caracterización del germoplasma en un programa de mejoramiento genético (Antuna *et al.*, 2003).

La constitución genética de la semilla es el primer componente que interviene como un elemento diferencial en la calidad de la misma. Varios estudios han demostrado que existe una correlación entre la longevidad y el componente genético de la semilla. Por lo anterior, se conocen en diferentes semillas que la respuesta genética es variable entre especies, lotes y aún entre mismos lotes de la semilla (Moreno *et al.*, 1978; Medina, 1989, Roberts, 1981 y Selvaraj y Ramaswamy, 1983).

Las semillas mejoradas, producto de los programas de mejoramiento genético, son un insumo clave y la estrategia alimentaria de un país, el resultado en la utilización de estas es el surgimiento y consolidación de una nueva generación de agricultores capaces de hacer del campo agrícola más rentable (Barkin y Suarez, 1983). Por consiguiente, es necesario contar con semillas de alta calidad en donde se involucren los componentes genéticos, físicos, fisiológicos y sanitarios, así como buenas características agronómicas.

Es por ello que algunas instituciones privadas y públicas del país a través de los años han generado programas de mejoramiento genético de tal forma que es aprovechada las bondades de la especie/cultivo, por ejemplo la característica especial del maíz como es la poliembrionía (PE), la cual se refiere, en general,

a la formación de varios embriones por semilla que pudieran desarrollarse como plantas completas incluyendo la formación de mazorcas.

Esta condición gemelar o poliembrionía es, una característica natural que puede ser aprovechable como una vía alterna en el diseño de variedades de aplicación especial, buscando además de potencial de rendimiento, el valor nutritivo del grano, incrementando cantidad y calidad de aceites y proteína; esto, bajo la hipótesis de que dos o más embriones por semilla, permitirán incrementar la capacidad de almacenamiento de nutrientes de calidad (Castro, 1973; Rodríguez, 1981; Espinoza *et al.*, 1998; Espinoza *et al.*, 1999).

La PE tiene el potencial como carácter reproductivo; por un lado, el que una semilla de maíz contenga dos o más embriones es un fenómeno de gran importancia ya que en el germen se concentran la mayor parte de aceites y la proteína de calidad, de esta manera el grano tendrá mayor calidad nutrimental; y por otro lado, la posibilidad de incrementar producción de materia seca por semilla y por unidad de superficie.

Ante tales aspectos, el Instituto Mexicano del Maíz “Dr. Mario E. Castro Gil” de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (IMM-UAAAN) ha venido estudiando y desarrollando un programa de mejoramiento genético en maíz con cierto porcentaje de poliembrionía pudiendo considerarse como un cultivo opcional para producir granos con un valor nutritivo más alto que el maíz convencional (Valdéz, 2005) dirigidos a la alimentación humana, sin embargo es necesario contar con semillas de calidad y selección de materiales para cubrir las necesidades en un sistema de producción con la finalidad de cubrir las demandas de grano con alto valor nutritivo para beneficio del ser humano o animal.

Por todo lo anterior, en el presente trabajo de investigación se plantean los siguientes objetivos e hipótesis:

Objetivo General

Evaluación de 24 materiales de maíz derivados de cruzamientos entre genotipos que combinan la poliembrionía y el alto contenido de aceite en base a su calidad física, fisiológica y bioquímica así como su relación entre ellos para propósitos de selección.

Objetivos Específicos

- Evaluar la calidad de los 24 materiales de maíz mediante pruebas físicas y fisiológicas (germinación y vigor) para propósitos de selección de materiales en condiciones de laboratorio.
- Evaluar la relación del contenido y tipo de proteínas presentes en los 24 materiales con la calidad fisiológica mediante pruebas de espectrofotometría y electroforesis vertical (PAGE- SDS).

Hipótesis

La calidad física y fisiológica de los materiales bajo estudio presentará algún grado de asociación con sus niveles de poliembrionía.

La calidad fisiológica de los materiales evaluados al menos uno tendrá relación en cuanto al tipo y contenido de proteínas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia y producción de maíz

En México, la mayor utilización del maíz es como alimento ya sea de uso pecuario o humano, en los últimos años se ha incrementado la utilización en procesos industriales, lo que ha generado la necesidad de contar con maíces especializados, de acuerdo al uso que se pretenda; lo que obliga a los mejoradores a trabajar para satisfacer nichos de mercado cada vez más especializados (Feed & Grain, 1998).

Con los maíces especializados se provee a la población humana de escasos recursos un alimento enriquecido con grasa, proteínas e incluso vitaminas que puede ayudar a combatir la desnutrición humana presente tanto en países subdesarrollados como en vías de desarrollo, y por lo tanto una de las mejores alternativas para dar mayor utilidad a este cereal, es mejorando su calidad de grano (Lamkey y Lee, 2006).

La producción mundial de grano del cual en 2007 es de 695 millones de toneladas de ellas Estados Unidos obtuvo una producción 282 millones de toneladas anuales, que en su mayor parte es maíz amarillo (692.3 millones de toneladas), y solamente 2.7 millones de toneladas es maíz blanco. Los países que le siguen son China, Brasil, México y Argentina; donde México pasó a ser el segundo productor de elote en el sexenio de 2000-2006 debajo de Estados Unidos (FAOSTAT, 2007).

En el país, este cultivo ocupa 8.07 millones de hectáreas equivalente al 40 % de la superficie agrícola sembrada. Del total de los productores de maíz, aproximadamente 90% tienen parcelas menores de cinco hectáreas y más de 80% utilizan semilla propia, adaptada a una enorme diversidad de situaciones geo-climáticas (SAGARPA, 2007).

El maíz es imprescindible en la dieta nacional por representar la mitad del volumen total de alimentos que se consumen anualmente en nuestro país, su consumo *per cápita* es de 330 gd^{-1} , (Hartcamp *et al.* 2000). Los principales estados productores de maíz blanco aportaron el 57% de la producción total en 2005; Sinaloa produjo 23% del total, Jalisco, 13%; Michoacán, Chiapas y Guerrero contribuyeron con el 7% cada uno. Para el 2006 el Servicio de información Agroalimentaria de consulta registró en la producción para maíz amarillo fueron los estados de Chihuahua 35%, Jalisco 25%, Tamaulipas 21% y Chiapas 13% dando un el 94% de la producción total nacional.

Mejoramiento genético de maíz

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

El principal objetivo del mejoramiento genético es generar variedades e híbridos que tengan un alto potencial de rendimiento y características agronómicas deseables basadas en el interés del agricultor. También es necesario producir semillas de alta calidad con respecto a sus componentes genéticos, físicos, fisiológicos y sanitarios. En el aspecto fisiológico de la semilla se ha promovido el desarrollo del concepto vigor como un parámetro del potencial real de la misma, ya que se manifiesta en cuatro etapas del ciclo de vida de las plantas: 1) mayor sobrevivencia en el almacenamiento, 2) mayor emergencia en campo, 3) mejor establecimiento de plántulas, y 4) mayor rendimiento (Woodstock, 1973).

En un estudio realizado por Vasal *et al.*, (1988) mencionan que el uso de germoplasma de maíz con tolerancia a endogamia y buena aptitud combinatoria, son factores muy importantes que se deben de considerar en el desarrollo de híbridos. Así mismo consideran la explotación de patrones heteróticos con un alto nivel de heterosis para desarrollar híbridos en el menor tiempo posible.

Dickson (1980) menciona que el componente genético es el de mayor importancia en la manifestación de vigor en la semilla, el cual no ha sido suficientemente explotado. Por lo anterior, Delouche (1985) sugiere que se implemente una estrategia a largo plazo para que se incluyan en los programas de mejoramiento genético los caracteres de vigor. Esta estrategia deberá ser orientada a la resistencia o tolerancia al deterioro de la semilla en el campo, incrementar la longevidad de la semilla bajo condiciones de estrés, mejorar la capacidad y emergencia bajo condiciones ambientales desfavorables.

Proteína en embrión-endospermo

Se han hecho algunos esfuerzos exitosos para aumentar el contenido de proteínas del maíz, un ejemplo clásico es la experimentación a largo plazo para alto contenido de proteínas llevada a cabo en una población de maíz en la estación agrícola experimental de Illinois. Después de 70 ciclos de selección, el contenido de proteínas del grano se incrementó de 10.9% a 26.6% (Dudley *et al.*, 1974). No se ha alcanzado un límite para seleccionar niveles más altos de proteínas, pero existe una correlación negativa entre el rendimiento de grano y el porcentaje de proteína en el mismo (Dudley y Lambert, 1977). Sin embargo, el incremento en el porcentaje de proteína no mostró un aumento proporcional en el valor nutricional del maíz (Poehlman, 1987).

El mayor impulso en investigaciones en mejorar la calidad proteica se dio cuando Mertz *et al.*, (1964) informaron que el gen opaco-2 incrementa al doble el contenido de lisina en el endospermo., dicho gen provoca un desbalance de la proteína, reduciendo la zeína e incrementando la lisina y triptófano. Sin embargo los efectos secundarios del opaco-2 es la reducción del rendimiento, granos de aspectos opacos y de textura harinosa, han hecho que la aceptación de este maíz sea limitado.

Un progreso similar en el desarrollo de germoplasma de maíz de alta calidad de proteínas con alto rendimiento comparable al del maíz normal se obtuvo por medio de grupos de genes de maíces de proteínas de calidad, poblaciones y variedades de polinización abierta por su adaptación a distintas condiciones, y líneas endocriadas con buena habilidad combinatoria para la producción de híbridos de maíz de proteínas de calidad que pueden fortalecer el cultivo y la producción de este tipo de maíces (Bjarnason y Vasal, 1992; Magnavaca *et al.*, 1989; Vasal, 1994). Pixley y Bjarnason (1993), reportaron sobre los resultados de ensayos de cuatro dialélico con 28 líneas de maíz de proteínas de calidad derivadas de cinco poblaciones. En estos ensayos los mejores híbridos

de proteínas de calidad dieron un rendimiento promedio de grano 14% superior a los mejores testigos. La concentración de triptófano en el grano aumento en 48% y su concentración en las proteínas se incremento en 60% a los cuales los denominaron QPM por sus sigla en ingle (Quality Protein Maize).

Conde *et al.*, (1977) mencionan que el tamaño relativo del embrión o relación embrión/endospermo ha sido utilizada como índice de selección para incrementar el contenido de proteína rica en lisina así como también el contenido de aceite; en relación a esto, estudiaron doce variedades de maíz encontrando variabilidad en porcentajes de embrión en el grano, además determinaron que no existe ninguna relación entre el peso del grano y el porcentaje del embrión, por lo que al aumentar el porcentaje del embrión no disminuirá necesariamente el peso del grano, concluyendo que es factible por medios genéticos desarrollar maíces con mejor calidad y cantidad de proteínas y un mayor contenido de calorías, debido a mayor cantidad de embrión en el grano.

El embrión constituye aproximadamente con el 20% del peso total del grano, la concentración de proteínas en el embrión es constante, pero no en su contribución a la calidad y cantidad de la proteína total del grano (Poey, 1978).

Poliembrionía (PE)

Debido a que en el embrión del maíz, se encuentran casi todo el aceite y la proteína rica en lisina y triptófano, es de esperar que el doble embrión mejorara el valor nutritivo de la semilla de maíz.

Con base a la literatura revisada el fenómeno de poliembrionía en maíz se ha investigado desde los principios del siglo xx cuando se encontraron plantas dobles provenientes de semillas individuales, las cuales se denominaron como plantas gemelas, (Ernest, 1918; Randon, 1936; y Skovested, 1939. Citado por Pesev *et al.*, 1976).

Pesev *et al.*, (1976) informan de dos poblaciones de maíz que presentan el carácter gemelar y de tripletes (equivalente a lo que se denomina PE) en frecuencia inicial de 3.1 % , observadas en el Instituto Yugoslavo del Maíz en los años 1963-1964, a partir de los cuales se desarrolló un programa de selección para el carácter y la formación de líneas endogámicas; los resultados en los diez años de trabajo se presentan a través de 12 líneas endogámicas cuya frecuencia PE varió de 2.1% a 25.5%, con superioridad de estas semillas en contenidos de proteínas y grasa cruda, así como lisina, al compararlos con el maíz común.

El estudio y manejo de plantas de maíz de doble embrión o gemelas, (denominación vigente de 1973 a 1995), o poliembriónicas, denominada así de 1996 a la fecha, por que las hay de 2 y hasta 7 plántulas por semillas, ha sido una línea de investigación en el IMM-UAAAN (Espinoza *et al.*, 1998).

Una recapitulación de los avances en el tema de plantas gemelas en el IMM-UAAAN lo presenta Rodríguez (1981), quien prosigue con la selección de maíces hacia mayor PE, realizando selección recurrente para incrementar los genes que condicionan el carácter doble embrión; el autor concluye que el carácter es altamente heredable ($0.77+0.08$, mediante la regresión progenie progenitor medio), señalando también que las plantas resultantes de las semillas con doble embrión son gemelas genéticamente idénticas en base a la reducida varianza fenotípica que presenta de los pares de plantas.

Webber (1940), documentó ampliamente en varias especies el fenómeno reproductivo conocido como poliembrionía (PE) y observado experimentalmente por primera vez en maíz irradiado por Morgan y Rappleye (1951). La PE tiene implicaciones importantes en el estudio de la especie sobre embriogénesis y genética, aunado a su probable aplicación en el diseño de nuevas variedades de alto potencial productivo; en este renglón es destacable el hecho de que dos o más embriones por semilla pudiera significar mayores contenidos de aceite y proteína embrionaria por grano y, en su caso, un ahorro de semillas por hectárea para alcanzar una determinada población por unidad de superficie agrícola.

Webber (1940), hizo una revisión de todos los trabajos sobre poliembrionía e indica que existen varios tipos, resumidos de la siguiente manera:

Poliembrionía esporofítica, los embriones esporofíticos se forman de las células de la nucela o del integumento, las cuales se dividen y se desarrollan dentro del saco embrionario, produciendo uno o varios embriones; para el desarrollo de los embriones esporofíticos es necesario el estímulo de la polinización y fertilización de la estructura reproductivas.

Poliembrionía por segmentación de cigoto, se da cuando el cigote o el embrión en una etapa temprana de su desarrollo se dividen en dos o más unidades y cada una origina un embrión en forma separada.

Poliembrionía simple, en angiospermas se origina debido a la fusión de la sinérgidas y antípodas por un núcleo generador extra.

Poliembrionía euploide, aquí se agrupan aquellos casos en que los embriones adventicios dan lugar a plantas haploides así como también euploide, este caso ha sido reportado en gramíneas principalmente.

Sin embargo Ernest (1918), distingue dos tipos de poliembrionía, verdadera y falsa; es verdadera cuando los embriones se originan de un solo embrión; y falsa cuando los embriones provienen de varios sacos embrionarios.

Existe evidencia de que la PE en maíz tiene una base heredable de índole cuantitativa; sin embargo, el comportamiento inconsistente en cuanto a la fijación de la PE en grupos genéticos que incluyen la característica, permiten suponer la participación de otros fenómenos genético-reproductivos como la interacción núcleo-citoplasma y la partenogénesis de tipo reduccional.

Rebolloza *et al.*, (2011), en un estudio realizado plantea que la poliembrionía que ocurre en dos poblaciones de maíz (*Zea mays* L.) es controlada por dos loci epistáticos, donde basta la presencia de un solo alelo dominante de cualquiera de ellos para expresar la condición normal de plántulas (acción genética duplicada), por lo que la poliembrionía se expresa sólo con el genotipo doble homocigótico recesivo.

La condición gemelar o poliembrionía en semillas de maíz es una característica natural que puede ser aprovechable como una vía alterna en el diseño de variedades de aplicación especial, buscando además de potencial de rendimiento, el valor nutritivo del grano, incrementando cantidad y calidad de aceites y proteína; esto, bajo la hipótesis de que dos o más embriones por semilla, permitirán incrementar la capacidad de almacenamiento de nutrientes de calidad (Castro, 1973; Rodríguez, 1981; Espinoza *et al.*, 1998; Espinoza *et al.*, 1999).

Otra causa de la PE fue descrito por Hallauer y Miranda (1981) y se refiere a una mutación recesiva designada "gametofito indeterminado" (*ig*) y se efectúa al saco embrionario de los genotipos homocigotes; algunos de los efectos de este gen son: esterilidad masculina, 50% de casos en plantas *igig*; plantas abortivas o defectuosas, 25% de plantas *Igig*; poliembrionia en 6% de semillas, endospermo normal, que recibieron el gen *ig* de madres *Igig* o *igig*; y monoploidia en el 3% de los casos de las cruza con madres *igig* de este modo, en el gen *ig* también ocasionan la perdida de las funciones normales en el desarrollo del gametofito femenino.

Calidad de la Semilla

El tema calidad ha tomado gran relevancia durante la última década a nivel global. Algunos lo consideran una traba comercial, otros lo definen como el resultado de la globalización y un paso necesario para incursionar en los mercados internacionales (Cuniberti, 2006).

El concepto de calidad ha ido variando a través del tiempo y en la actualidad "calidad es lo que demanda el cliente". Esto implica un criterio más amplio referido al uso final y a la calidad diferenciada según el producto a obtener (Cuniberti, 2006).

La calidad del grano de maíz está asociada tanto con su constitución física, que determina la textura y dureza, como con su composición química, que define el valor nutricional y las propiedades tecnológicas. La importancia relativa de estas características resultará del destino de la producción. Los mercados son cada vez más exigentes y se interesan por el contenido de proteínas, aminoácidos, almidón, aceites y demás componentes, y paulatinamente se reduce la

tolerancia a sustancias contaminantes. Para las industrias que emplean grano de maíz, su calidad y propiedades tecnológicas son una preocupación fundamental. Se requieren granos sanos, limpios, uniformes de tamaño, textura y color (Balcarce, 2007).

Por su parte, las empresas semilleras realizan, en una marca de alta competitividad, grandes inversiones para poner al alcance del productor nuevos híbridos que cubran los requerimientos del mercado y de la industria. En este contexto, a la hora de tomar la decisión de siembra, el productor deberá decidir acerca de la posibilidad de realizar producciones específicas de acuerdo con la demanda de la industria, haciendo contratos directos con las empresas del sector con precios superiores a los del mercado a granel (Balcarce, 2007).

Calidad genética

La calidad genética se refiere a las características que el fitomejorador elige antes de liberar una nueva variedad (Delouche, 1980); es determinada por el genotipo de la variedad o híbrido. Cuando una institución libera una variedad y recomienda que se implemente en un programa de certificación, ha cumplido con este componente de primer importancia (Bustamante, 1979).

Estas características presentan variaciones entre y dentro de las fuentes parentales las cuales están determinadas tanto por su componente genético y vigor, como por las condiciones climáticas y edáficas de los sitios de crecimiento, así como por la presencia de plagas y enfermedades (Snook *et al.*, 2005;).

Calidad fisiológica

La calidad fisiológica implica la integridad de las estructuras y procesos fisiológicos que permiten a la semilla mantener altos índices de viabilidad. Los principales indicadores de la calidad fisiológica son la germinación y el vigor, que dependen del genotipo y del cuidado de su desarrollo en la producción y del manejo poscosecha (Perry, 1972; Moreno *et al.*, 1988). Las determinaciones del vigor de la semilla son útiles para predecir el comportamiento de un lote cuando las condiciones del ambiente no son del todo favorables para la germinación y emergencia de las plántulas, así como para estimar el periodo de almacenamiento de las mismas al que pueden ser sometidas, ya que se ha demostrado que el vigor y la longevidad están altamente relacionados (Moreno, 1996), este mismo autor considera que la calidad fisiológica es un valor comercial por ser el principal atributo a evaluar, a que consiste en la capacidad de la semilla para germinar y producir una plántula normal.

La calidad fisiológica de una semilla resulta de la historia de la planta madre, primero la adquisición de la aptitud de producir semillas vigorosas y tolerar el secado, entonces la pérdida de vigor es un proceso de envejecimiento que empieza durante el secado de la semilla (Powell *et al.*, 1984).

Calidad física

La calidad física representa a la apariencia de la semilla, que depende del tamaño, peso volumétrico, brillantez, pureza analítica, ausencia de semillas de malezas comunes y nocivas, y de otros cultivos (Delouche, 1980). Entre las principales características físicas de interés están: la pureza analítica, el contenido de humedad, peso de la semilla y el color. Estas son indicadoras de la calidad de un lote de semillas. (Garay, 1989). Los dos componentes físicos

esenciales son: el tamaño y la uniformidad; el tamaño es una característica varietal y la uniformidad tiene su origen en las condiciones ambientales (Thomson, 1979).

Calidad Bioquímica

Carbohidratos

El componente químico principal del grano de maíz es el almidón (que es en la forma en la que los cereales almacenan energía en el grano) al que corresponde hasta el 72 ó 73 % del peso del grano. A nivel genético existen diferentes factores y unidades de transcripción que influyen directamente en la composición del almidón en el endospermo (Fisher *et al.*, 1996; Opsahl-Ferstad *et al.*, 1997; Boyer y Hannah, 2001; Gómez *et al.*, 2002).

Con respecto a la cantidad total de almidón en la semilla, el endospermo aporta en promedio 87%; además, contiene diversos tipos de proteínas: albúminas, globulinas, prolaminas, zeninas y glutelinas, así como cantidades menores de aceites, cenizas y azúcares (FAO, 1993)

Proteínas

Análisis bromatológicos de los maíces comunes que llenan actualmente el mercado mundial de granos indican que los niveles de proteína cruda están entre 7.5 a 8.4 por ciento, con bajo contenido de aminoácidos esenciales, especialmente de lisina y triptófano; el porcentaje de grasa está en el intervalo

de 3.0 a 3.5; excepción hecha en los maíces altamente especializados, sea para calidad proteica o para alto contenido de aceite, cuyos valores son significativamente más altos que los anteriores (Dale, 1997).

Las proteínas resultan de distintas combinaciones generadas por los veinte aminoácidos naturales; los aminoácidos se unen en largas hileras o cadenas, mantenidas por enlaces peptídicos. Para sintetizar sus proteínas esenciales, cada especie necesita disponer de los veinte aminoácidos, los cuales se clasifican en esenciales y no esenciales; estos pueden ser necesariamente incluidos en la dieta de humanos, entre estos se encuentran: triptófano, lisina, valina, fenilalanina, treonina, metionina, leucina, isoleucina. Las plantas pueden fabricar sus aminoácidos a partir de nitrógeno, dióxido de carbono y otros compuestos por medio de la fotosíntesis (Lehninger, 1981).

Comparado con otros cereales, el grano de maíz es una fuente importante de energía pero menor como fuente de proteína, tanto en proporción como en calidad, dada las carencias en aminoácidos esenciales; el porcentaje de lisina en grano es menor a 0.29, y el triptófano no rebasa en 0.07 (Feed y Grain, 1998).

Lípidos

En México, el estudio y desarrollo de variedades de alto contenido de aceite ha sido limitado, por lo que aún no existen en el mercado nacional, variedades comerciales con alto contenido de aceite (Coutiño *et al.*, 2008), estos autores realizaron un programa de mejoramiento de selección recurrente de familias de medios hermanos para incrementar el contenido de aceite en maíz comiteco,

después de dos ciclos de selección, encontraron, que el contenido de aceite se incrementó de 3.7 C0 a 4.07 % C2 ($P \leq 0.05$), pero el contenido de proteína disminuyó con la selección.

Un caso especial de maíces de alto contenido de aceite lo presenta Valdéz (2005), donde al realizar un análisis bromatológico en dos poblaciones poliembriónicas del IMM-UAAAN, denominadas Normal de Alta Poliembriónía (IMM-UAAAN-NAP) y Braquítica de Alta Poliembriónía (IMM-UAAAN-BAP), encontrando alrededor de 6 % de aceite en el grano, una relación de ácidos grasos oléico/linoléico muy cercana a uno (0.98 en promedio), calidad que fue estadísticamente superior a la presentada por la población Tuxpeño Alto Aceite de CIMMYT, la cual presentó una relación oléico/linoléico de 0.86.

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

El aceite de embrión tiene 2.5 veces más energía por unidad de peso que el almidón del endospermo, con base en peso seco, por lo que al incrementar el contenido de aceite se incrementa la eficiencia energética del grano oleico (Watson y Freeman, 1975).

Selección de materiales a través de pruebas de calidad

Existen diversas investigaciones donde las pruebas de calidad han servido para selección de materiales.

En una formación y caracterización de materiales de maíz poliembriónico hecha por González 2009, encontró que la germinación (GE) es mejorada de manera significativa al cruzar dos fuentes de germoplasma, una de alta frecuencia poliembriónica (PE) y otra de alto contenido de aceite (AA), genéticamente distantes; los valores oscilaron entre 93 y 99 %; la proporción híbrida PE:AA 50:50 fue la que presentó la mejor germinación. Las pruebas bioquímicas permitieron detectar que las dosis intermedias (combinación PE:AA) alcanzaron valores del aminoácido lisina (Lis) y grasa cruda (GC), superiores al de maíz normal (2.7% y 6.9%). La PE confiere a la población portadora el valor más alto para Lis (4%), mientras que AA presentó el más alto en aceite (8.3%).

Vázquez 1999, realizó un estudio de cómo la genética de la semilla afecta la calidad fisiológica; encontrando que las mejores líneas con efecto de dominancia fueron AN₂₀, AN₂₁₁ y AN₂₃₂, en germinación inicial; mientras que en la prueba fría, envejecimiento artificial y longitud media de plúmula, sobresale la línea AN₂₅₅ y AN₂. Demostrando su calidad fisiológica que está relacionada con la genética de los materiales evaluados.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del Área de Estudio

El presente trabajo de investigación, se llevó a cabo en el Laboratorio de Ensayos de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Saltillo, Coahuila, México.

Material Genético

Se evaluaron genotipos de maíz (*Zea mays* L.) teniendo como testigos un híbrido comercial denominado AN-447 y genotipos no convencionales con diferentes porcentajes de poliembrionía en su germoplasma y al genotipo denominado tuxpeño de alto contenido de aceite mostrados e identificados en el Cuadro 3.1. Todos los genotipos fueron producidos y cosechados en el ciclo Primavera-Verano, 2008 de la localidad Buenavista, Saltillo, Coahuila.

El estudio involucró las fuentes de germoplasma denominados en breve como D (población IMM-UAAAN_BAP, enana de alta frecuencia poliembriónica, de 55 a 60%) y E (población Tuxpeño de alto aceite, de 8 a 9 % de grasa cruda, derivada en CIMMYT), las cuales fueron utilizadas como progenitores de una serie de cruzamientos, iniciándose con la F₁, directa y recíproca (D x E híbrido denominado F, y E x D, denominado G); las progenies de las generaciones

subsecuentes de cada una de ellas (F_2 y F_3) y un sistema de retrocruzas a partir de las F_1 (RC_1 y RC_2) hacia ambos progenitores en forma directa y reciproca que permitió generar proporciones de germoplasma que combinan PE y alto aceite (AA) con distancias de 12.5 % en la escala de 0 a 100 %.

Los niveles de germoplasma fueron generadas por diferentes vías, combinando a los tres tipos de materiales (poblaciones, progenies y retrocruzas), por lo que se tiene un número variable de genotipos con la misma dosis; e.g. la ruta para lograr la proporción poliembriónica: alto aceite (PE:AA) de 75:25 %, genera cuatro genotipos que se logran con la utilización de las F_1 's (D x E, denominada "F" y E x D, denominada "G") en retrocruza hacia la población Braquítica de alta Poliembriónía (D), directa y reciproca; por lo tanto, son cuatro los genotipos obtenidos para esta dosis.

Cuadro 3.1 Descripción e identificación de los genotipos de maíz poliembriónico, de alto aceite y material comercial.

Identificación	Genealogía	Dosis de germoplasma PE
1	D	100
2	D X DG	87.5
3	D X DF	87.5
4	D X G	75
5	D X F	75
6	D X EG	62.5
7	D X EF	62.5
8	FFFF	50
9	G	50
10	GG	50
11	GGG	50
12	FF	50
13	F	50
14	E X DF	37.5
15	E X DG	37.5
16	E X G	25
17	E X F	25
18	E X EF	12.5
19	E X EG	12.5
20	E	0
21	AN-447	T
22	C	T (PE)
23	C X E	T (No-PE)
24	E X C	T (No-PE)

C= Normal de alta Poliembriónía; D= Braquítica de alta Poliembriónía; E= Tuxpeño de Alto Aceite; F = cruza de D x E; G= cruza de E x D; AN-447= Híbrido comercial del IMM-UAAAN. PE= Germoplasma poliembriónico; D; D x DG; D x DF; D x G; D x F; D x EG; D x EF; FFF; G; GG; GGG; FF; F; E x DF; E x DG; E x G; E x F; E x EF; E x EG; E; AN-447; C; C x E; E x C.

Parámetros Evaluados

Los materiales se evaluaron mediante pruebas físicas, fisiológicas y bioquímicas en condiciones de laboratorio donde las variables fueron:

Calidad física

Peso de Mil Semillas

Se consideró la metodología descrita por la ISTA (2009), se tomaron al azar ocho repeticiones de 100 semillas de cada material por tres repeticiones, el conteo se realizó manualmente; cada una de las repeticiones se pesó en gramos en una balanza analítica de 0.0001 g de precisión, se determinó el peso mil semillas considerando el promedio de las ocho repeticiones multiplicado por 10, así mismo se determinó la varianza (S^2), la desviación estándar (S) y el coeficiente de variación (CV) de la siguiente manera:

$$S^2 = \frac{n(\sum x^2) - (\sum x)^2}{n(n-1)} \quad S = \sqrt{S^2}$$

$$CV = \frac{S}{X} \times 100$$

En donde:

x = peso en gramos en cada repetición.

N = número de repeticiones.

Σ = operador sumatoria.

\bar{X} = media del peso de 100 semillas.

Peso Volumétrico

Para determinar el peso volumétrico de semillas se empleó el volumen de un recipiente conocido. Sobre la parte central del recipiente, la semilla se vació en el mismo; sobrepasando el borde, se eliminó el exceso mediante el paso en “zig-zag” con una regla de madera, así la semilla queda al ras del recipiente. Una vez realizada la operación de llenado, se pesó la semilla y se procedió a calcular el peso volumétrico en Kg/HL (ISTA, 2004).

Contenido de Humedad

Se determinó el contenido de humedad por el método indirecto mediante un determinador de humedad electrónico (Motomco), el cual mide el agua adherida parcialmente en el grano o la semilla, utilizando un determinado rango de humedad por debajo del 20 %, se utilizó 250 g de muestra con tres repeticiones por genotipo.

Calidad fisiológica

Las pruebas para determinar la calidad fisiológica se realizaron mediante una prueba de capacidad de germinación determinando el porcentaje de plántulas normales, plántulas anormales, semillas sin germinar, además de su

poliembrionía, y pruebas de vigor a través de (EA), Longitud media de Plúmula (LMP), Longitud Media de Radícula (LMR), Peso Seco (PS); para poder seleccionar con mayor eficacia se realizaron las pruebas de LMP, LMR y PS aun después del EA todo ello bajo condiciones controladas de laboratorio y utilizando la metodología descrita por ISTA (2004), con ciertas adecuaciones.

Capacidad de Germinación

Para determinar la capacidad de germinación se basó en los principios de las reglas internacionales de la ISTA (2004), en las condiciones de agua, luz, temperatura y entre papel; modificando el número de semillas por repetición.

Se sembraron 25 semillas de cada material en tres repeticiones, usando como sustrato tipo papel conocido como papel "Anchor" de 35 x 28 cm , previamente humedecido, colocando la semilla en una línea central del papel y se cubriendo con otra hoja de papel humedecida, posteriormente se enrollaron formando "tacos"; los cuales fueron colocados en una bolsa de polietileno en posición vertical y llevados a una cámara germinadora marca Biotronette mark III de alta capacidad a una temperatura de 25 ± 1 °C, en condiciones de 8 horas luz blanca de 15 lux y 16 horas de oscuridad por 7 días, los riegos se realizaron cada tercer día .

Al finalizar el tiempo se cuantificaron las plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA) y semillas sin germinar (SSG) y el porcentaje de poliembrionía (PE); descritas por el manual de la AOSA (1992).

Plántulas Normales (PN). Se consideraron plántulas normales aquellas que presentaron sus estructuras esenciales intactas como; el sistema radicular bien desarrollado, la plúmula intacta es decir una hoja verde y que tuvieran más de 2.5 cm de longitud para poderse considerar como normales.

Plántulas Anormales (PA). Se consideró como plántula anormal aquellas que durante la prueba presentaron deficiencia en el desarrollo de sus estructuras esenciales tales como; defectos que limitan su crecimiento y desarrollo como; plúmulas retorcidas en espiral; talluelos hinchados, coleóptilos sin hojas verdes, que miden menos de 2.5 cm.

Semillas sin Germinar (SSG). Se determinó como semilla sin germinar a aquellas que se mantuvieron duras durante y al final de la prueba de germinación, ya que no absorben agua porque tienen cubierta impermeable, no muestran ningún signo de desarrollo y comúnmente están flácidas, decoloradas y con presencia de hongo.

Porcentaje de poliembrionía (PE). Para determinar el porcentaje de poliembrionía se cuantificaron en cada una de las repeticiones de los materiales evaluados contando el número de semillas que dieron origen a más de una plúmula por semilla al séptimo día de la evaluación.

Pruebas de vigor

Longitud media de plúmula (LMP). Se realizó conforme a Perry (1987). Sembrando tres repeticiones de 25 semillas para cada material con el embrión

hacia abajo de forma equidistante en una cinta de doble pegamento sobre una línea media horizontal marcada en el centro de una hoja de papel germinador “anchor” seguida hacia arriba de otras cinco líneas equidistantes de dos centímetros entre cada paralela al punto medio entre dichas paralelas horizontales se le asignó valores de 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 cm una vez pegada la semilla se humedeció el papel con agua, colocando otra hoja de papel humedecida de igual manera para cubrir la semilla, enrollando a formar “tacos” y sujetos con ligas en los extremos.

Los tacos fueron colocados en una bolsa de polietileno en posición vertical y llevada a una cámara germinadora marca Biotronette mark III de alta capacidad a una temperatura de 25 ± 1 °C realizando los riegos cada tercer día. Las condiciones de luz y temperatura fueron las mismas durante todo el periodo de prueba.

Al séptimo día de la siembra se cuantificaron las plántulas normales (PN), descritas en el manual de la AOSA (1992). El número de plúmulas encontradas en cada paralela se multiplicó por el valor de la misma y se sumó el total, dividiendo la suma entre el número de semilla sembradas (25) expresando el resultado en centímetros.

Longitud media de radícula (LMR). Considerando las plántulas normales de la prueba anterior se tomaron 10 plántulas aleatoriamente y a cada una de estas se midió la raíz principal con la ayuda de una regla métrica registrando su longitud en cm.

Tasa de crecimiento de plántula (Peso seco, PS). Se evaluaron las plántulas consideradas como normales de la prueba de germinación, obtenidas del

conteo final, descartando el resto del grano de cada plántula y el mesocolito, colocando la plúmula y radícula en bolsas de papel estraza perforadas, llevándolas a una temperatura de 75 ± 1 °C por un lapso de 24 horas.

Una vez transcurrido el tiempo las bolsas se llevaron a un desecador con silica gel por 15 minutos para enfriar y posteriormente se peso cada bolsa en una balanza analítica de 0.001 g de precisión, determinando la tasa de crecimiento con el peso de la plántula en mg dividida entre el número de plántulas normales.

Envejecimiento acelerado (EA). Esta prueba se efectuó de acuerdo a la metodología propuesta por AOSA (1992). Evaluando 75 semillas por material colocadas una malla metálica de una cámara interna soportada la malla en un cilindro de alambre inoxidable en un vaso de precipitado con 100 mL de agua destilada cubriendo cada vaso con un plástico y sujetando con una liga de caucho, Las cámaras internas se colocaron en una cámara de envejecimiento a temperaturas de $42^{\circ}\text{C} \pm 0.5$ °C por 96 horas con una humedad relativa de 90 %. Después del envejecimiento las semillas fueron sometidas a una prueba de germinación.

Se realizaron tres repeticiones de 25 semillas por genotipo, realizándose solamente un conteo a los 7 días de la siembra para los 24 materiales en estudio.

En este ensayo se evaluaron las plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA) y semillas sin germinar (SSG). Otra de las pruebas que se implementaron fue la de LMP, LMR y PS en las plántulas normales resultantes de la prueba de

envejecimiento acelerado. El porcentaje e poliembrionía se determino contando el número de semillas que dieron origen a más de una plántula

Calidad bioquímica

Extracción por solubilidad

Extracción de albúminas. Se peso 1 g de muestra molida y desengrasada agregándole 5 mL de agua a 4 °C se mezcló el contenido y se colocó en un agitador oscilatorio en frio por 15 minutos para posteriormente dejar reposar por 4 horas (refrigerador), después del tiempo de reposo se centrifugo por 10 minutos a 4000 rpm, se pasó el sobrenadante a un tubo ependorf y el residuo se lavó con 2.5 mL de agua a 4 °C agitando en frio por 5 minutos y centrifugando por 10 minutos a 4000 rpm. Se juntó el sobrenadante con el anterior, y se aforó a 10 ml con agua destilada. Se cuantifico el contenido de proteína en el espectrofotómetro.

Extracción de globulinas. Al residuo del punto anterior se le añadió 5 mL de solución de cloruro de sodio al 5% a 4 °C se mezcló el contenido agitándolo por 15 minutos en frio se dejo reposar por 1 hora a 4 °C, después del tiempo de reposo se centrifugo por 10 minutos a 4000 rpm, se paso el sobrenadante a un tubo ependorf, se lavó el residuo con 2.5 ml de cloruro de sodio a 4°C agitándose en frio por 5 minutos y centrifugando por 10 minutos a 4000 rpm. Se juntaron los sobrenadantes y se aforo a 10 mL con cloruro de sodio al 5%, la cuantificación se realizo por el método de espectrofotometría.

Extracción de zeína. La extracción de la zeína se realizó con pyronina G al 0.05 %, se peso 0.05 g de muestra molida y desengrasada y se le agregó 0.5 mL de solución de pyronina G y se dejó reposar en frío toda la noche, la cuantificación se realizó por el método de espectrofotometría.

Extracción de glutelinas. Al residuo anterior se le añadió 5 ml de solución de Hidróxido de sodio al 0.2% a 4 °C se mezcló el contenido, se agitó en frío por 15 minutos y se guardó en refrigeración por 1 hora a 4 °C posteriormente se centrifugó por 10 minutos a 4000 rpm se pasó el sobrenadante a un tubo ependor, se lavó el residuo con 2.5 mL de hidróxido de sodio a 4 °C y se agitó en frío por 5 minutos se centrifugó por 10 minutos a 4000 rpm, se juntaron los sobrenadantes y se aforó a 10 ml con hidróxido de sodio, la cuantificación se realizó por el método de espectrofotometría.

Cuantificación por espectrofotometría

La cuantificación de las proteínas se realizó de acuerdo a la metodología de Bradford (1976), utilizando un kit reactivo de Bradford, el cual contiene azul de coomassie, etanol y ácido ortofosfórico produciendo un reactivo ácido, el cual reacciona enlazando residuos de aminoácidos básicos y aromáticos especialmente arginina de las proteínas extraídas.

Para la lectura de las proteínas se utilizó un espectrofotómetro Serie BioMate 3, por lo cual se realizó el ajuste de la curva lineal.

Una vez obtenida la curva, se procedió a evaluar cada repetición de los genotipos colocando en un tubo de ensayo 150 μL de la proteína extraída y se le añadieron 1.5 mL de solución Bradford, se agitó por unos segundos y se evaluó la concentración en el espectrofotómetro a 950 nm de longitud de onda en absorbancia y en $\mu\text{g/mL}$, este proceso se realizó para cada una de las proteínas.

Cualificación por electroforesis vertical (PAGE-SDS)

A continuación se mencionan los reactivos y el procedimiento empleado en la electroforesis en geles de poliacrilamida con sulfato dodecil de sodio (SDS-PAGE).

Se colocaron los vidrios, uno sobre el otro, separándolos con dos tiras de polietileno de 1mm en cada extremo, posteriormente se colocaron los vidrios en el soporte del aparato, cuidando que asentarán en los empaque de la parte inferior.

Cuadro 3.2 Soluciones para la preparación de geles, de corrida y concentrador en la prueba de electroforesis vertical.

Gel de corrida 4.8%		Gel concentrador 6.8%	
Buffer 4X pH=8.5	4.27 mL	Buffer 4X pH=6.8	2.03 mL
Acrilamida-bisacrilamida 30%	2.5 mL	Acrilamida-bisacrilamida 30%	1 mL
TEMED 8.4%	50 μL	TEMED 8.4%	20 μL
Persulfato de amonio 10%	100 μL	Persulfato de amonio 10%	40 μL

Se preparó el gel de corrida al 85% y se vació en el espacio que hay entre los vidrios ocupando aproximadamente 2/3 de la longitud de los vidrios.

Se preparo el gel concentrador al 6.8% y se vació en el espacio restante, antes de que polimerizara se colocó el peine cuidando de no dejar burbujas.

Una vez polimerizados los geles se quito el peine con cuidado y se cargaron los pozos con 20 μ L de muestra y se llevó a la cámara, la cual se lleno de buffer de corrida 10x hasta cubrir los vidrios. Se colocó la cubierta y se colocaron los cables del aparato de electroforesis a la fuente de poder positivo con el positivo (rojo) y el negativo (negro). Se ajusto el voltaje a 150 V y se dejo correr la muestra por un cierto periodo de tiempo, al término de este tiempo se apagó lo fuente de poder y se desconectaron los electrodos, sacando al final el porta gel, posteriormente se liberaron los vidrios que contienen el gel desprendiendo el gel con cuidado y se colocó en un recipiente con solución teñidora por 20 minutos.

Después del tiempo se quito la solución teñidora y se pusó en la solución desteñidora dejando reposar 30 minutos, se repitió 3 veces, hasta que la banda de las proteínas fueran visibles.

Se lavó el gel con agua destilada y se guardó en una bolsa de polietileno con cierre, se escanearon los geles para evaluar las bandas y los pesos moleculares de cada una de ellas.

Diseño Experimental

El análisis estadístico se realizó con los valores que se obtuvieron del experimento; los resultados de las variables de los tratamientos seleccionados y fueron establecidos y analizados con procedimientos acordes a un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones.

Análisis Estadístico

Los análisis de varianza y la pruebas de medias se realizaron mediante el paquete estadístico SAS Versión 9.0, (2002), con el siguiente modelo estadístico.

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

Donde:

Y_{ij} = la i-j esima variable observada.

μ = Efecto de la media general.

T_i = Efecto del i-ésimo tratamiento.

E_{ij} = Error experimental.

$i = 1, 2, \dots n$ tratamientos.

$j = 1, 2, \dots n$ repeticiones.

Las medias de cada variable se compararon mediante la prueba de DMS al nivel de significancia al 0.05 %.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Calidad Física

En el Cuadro 4.1 se muestra el análisis de varianza en la calidad física de los genotipos de maíz estudiados, presentando diferencias altamente significativas en las variables peso volumétrico (PV), contenido de humedad (CH) y peso de mil semillas (PMS), indicando, que los genotipos resultaron diferentes o al menos un genotipo tuvo valores diferentes en cada una de las variables evaluadas.

Cuadro 4.1 Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza para calidad física en cada una de las variables evaluadas en genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite.

F.V	G.L	PV (HI)	CH (%)	PMS (g)
Genotipo	23	12.9**	0.1**	969.1**
Error	48	0.0	0.0	0.0
% C.V		0.0	1.7	0.0

** Altamente Significativo; % CV= Porcentaje del Coeficiente de Variación; GL= Grados de Libertad; PV= Peso Volumétrico; CH= Contenido de Humedad y PMS= Peso de Mil Semillas.

Se realizó la prueba de comparación de medias en la variable peso volumétrico, encontrando 10 grupos estadísticos como se muestra en el Cuadro 4.2; donde los genotipos 15 y 16 ambos con valores de 73.5 kg/HL representaron el primer grupo, mientras 4, 8 y 9 con valores de 73.0 Kg/HL como el segundo grupo estadístico, estos dos grupos tuvieron los valores más cercanos a los aceptables por el Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas

(SNICS, 1980) para la comercialización de semilla ya que el valor oscila entre 73 y 75 Kg/HL en semilla de maíz dependiendo de la variedad; mientras que los genotipos con resultados de menor peso fueron 6, 7 y 21 entre 69.9 a 63.5 Kg/HL, lo cual indica que estos genotipos pudieran tener baja calidad física por el bajo peso, sin embargo, no sólo se considera esta variable para poder clasificar los genotipos como de baja calidad, ya que el peso tiene una relación directa con el contenido de humedad de la semilla y al peso de mil semillas; otros de los factores que pudieran intervenir en la comparación del peso entre los genotipos es el tamaño de la semilla y el contenido de humedad; entre más grande el tamaño y mayor contenido de humedad, el número de semillas se reduce en el volumen conocido y por tanto el peso volumétrico es menor, efecto contrario, si la semilla es más pequeña y menos húmeda, existe mayor número de semillas en el volumen y por tanto mayor peso volumétrico.

En lo que se refiere a la variable de contenido de humedad de los materiales estudiados; es importante señalar que los valores registrados en todos los genotipos son los recomendados por el SNICS para su buena conservación de la semilla y comercialización de la misma, siendo de un rango de 9 a 11 % de contenido de humedad; por lo que los genotipos estudiados tiene este atributo de calidad aceptable, sin embargo esta variable afecta la variable anterior como ya se menciono, a mayor humedad menor cantidad de semilla resaltando menor peso volumétrico y viceversa. Por lo tanto en la prueba de comparación de medias resultante, se encontraron 8 grupos estadísticos como se muestra en el Cuadro 4.2, los genotipos 1, 3, 4, 6 y 23 entre otros obtuvieron valores de 9.8 hasta 9.6 % formando el primer grupo y teniendo los mayores porcentajes de contenido de humedad; mientras que el genotipo 21, quien es el testigo (AN-447) sobresalió por obtener el menor porcentaje con 8.9 % y ser el último grupo estadístico, mostrado en el mismo Cuadro.

Cuadro 4.2 Resultado de la comparación de medias de las diferentes variables evaluadas para calidad física en genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite

Identificación	Genotipo	PV (HI)	CH (%)	PMS (g)
1	D	72.5 c	9.8 a	298.1 v
2	DxDG	68.8 i	9.5 bcde	310.6 t
3	DxDF	71.4 d	9.7 abc	351.9 a
4	DxG	73.02 b	9.7 ab	292.1 w
5	DxF	70.9 e	9.5 cdef	305.3 u
6	DxEG	69.5 h	9.6 abcd	349.1 b
7	DxEF	69.9 e	9.6 abcde	338.2 e
8	FFF	73.1 b	9.7 abc	333.8 g
9	ExD(G)	73.0 b	9.6 abcd	332.8 h
10	GG	72.5c	9.2 g	341.1 d
11	GGG	70.90 e	9.9 defg	318.1 q
12	FF	71.4 d	9.4 defg	317.1 r
13	DxE(F)	71.3 d	9.1 efg	319.9 p
14	ExDF	71.4 d	9.2 fg	341.9 c
15	ExDG	73.5 a	9.3 efg	327.7 k
16	ExG	73.4 a	9.7 abc	335.3 f
17	ExF	71.4 d	9.5 bcde	324.4 m
18	ExEF	71.4 d	9.2 g	329.5 i
19	ExEG	71.4 d	9.3 efg	324.9 n
20	E	71.4 d	9.2 g	328.3 j
21	AN-447	63.5 j	8.9 h	275.4 x
22	C	71.5 d	9.5 bcde	322.0 o
23	CxE	69.8 g	9.7 ab	311.6 s
24	ExC	72.5 c	9.2 fg	326.6 l

PV= Peso Volumétrico; CH= Contenido de Humedad y PMS= Peso de Mil Semillas

Con respecto a la variable de peso de mil semillas, en la prueba de comparación de medias resultó que cada genotipo formo un grupo diferente, sobresaliendo en los primeros cinco grupos de mayor a menor peso 3, 6, 10, 14 y 7 desde 351.9 a 338.2 g; mientras que los cinco grupos estadísticos resultantes con los menores pesos de mil semillas fueron 2, 5, 1, 4 y 21 desde 310.6 a 275.3 g; marcando al genotipo 21 (Testigo AN-447) como el de menor peso de mil semillas; con ello se comprueba que el factor peso en este material es la causa de un bajo peso volumétrico, comprobando que si existe un efecto

en el PV por el peso de la semilla; lo cual puede indicar que este genotipo no reúne la calidad física necesaria para su comercialización; sin embargo también es importante mencionar que tanto el peso como el tamaño de la semilla están sujetos a las condiciones ambientales que si son adversas disminuye el PV y el PMS como menciona Thompson (1979).

Calidad Fisiológica

Capacidad de germinación

El análisis de varianza como se muestra en el Cuadro 4.3, refleja que para las variables Plántulas Normales (PN) y Plántulas Anormales (PA) en la prueba de capacidad de germinación hubo diferencias altamente significativas entre los genotipos estudiados lo cual nos indica que al menos un genotipo presentó diferencias en su valor para estas variables; sucediendo lo contrario para el caso de las variables de Semillas Sin Germinar (SSG) y Poliembrionía (PE) donde no se presento diferencia entre los materiales.

Cuadros 4.3 Cuadros medios y significancia del análisis de varianza de las variables evaluadas en la prueba capacidad de germinación de los genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite.

Fuente de Variación	GL	PN (%)	PA (%)	SSG (%)	PE (%)
Genotipo	23	255.2**	215.0**	7.4NS	101.4NS
Error	48	75.3	70.2	5.1	71.1
% C.V		9.3	145.0	214.1	237.1

** Altamente Significativo; NS= No Significativo; CV= Porcentaje del Coeficiente de Variación; GL= Grados de Libertad; PN= Plántulas Normales; PA= Plántulas Anormales; SSG= Semillas sin Germinar y PE= Poliembrionía.

La prueba de comparación de medias que se muestra en el Cuadro 4.4 para la variable PN, mostró la diferencia generada entre los genotipos formando 4 grupos estadísticos, donde los mejores genotipos fueron 6, 9, 10, 15, 23 y 24 presentando un 100% de Plántulas Normales conformando el primer grupo estadístico en esta variable mientras que los materiales con menor valor fueron 1, 3 y 5 sus valores van de 78.7 a 62.7% indicando una baja calidad fisiológica en los genotipos, por lo cual no cumplen con la norma establecida para la comercialización. Es de resaltar que el genotipo 1, a pesar del 100% de poliembrionía fue el más bajo en su calidad fisiológica en germinación con un 62.7% de PN.

Esta baja calidad fisiológica es dada posiblemente a varios factores como la herencia, origen de la semilla, contaminación en campo de producción, las condiciones durante el crecimiento, o las condiciones post-maduración y precosecha, así como en la cosecha y a las condiciones de almacenamiento como lo menciona Besnier (1989).

Para la variable de PA el resultado de la comparación de medias muestra que los genotipos formaron 4 grupos estadísticos, donde los genotipos con mayor porcentaje de plántula anormales fueron 1, 3, 5 y 17 mostrados en el Cuadro 4.4, resultando los primeros tres (1, 3 y 5) los que fueron de menor porcentaje de PN; seguidos de 2, 7 y 21 con valores de 9.3 a 8.0 %; esto confirma que son materiales de baja calidad fisiológica por tener porcentajes elevados de anormalidades, como menciona Moreno (1996), que la baja calidad es el resultado del deterioro de la semilla dada por un aumento en las PA y SSG. El resto de los materiales presentaron hasta un cero por ciento de PA siendo los mejores.

En cuanto a semilla sin germinar se formaron 3 grupos estadísticos, donde los genotipos con mayor deterioro por presentar mayor número de semillas muertas fueron 1, 4, 16, 17 y 21 con valores de 5.3 a 2.7%, seguidos de 3, 5, 7, 13 y 19 todos con valores de 1.3%, confirmando la baja capacidad de germinación, posiblemente debido a que en alguna de sus etapas de desarrollo pudo haber sido dañada (Thompson, 1979). El resto de los genotipos resultaron mejores por no presentar semillas sin germinar.

En la prueba de comparación de medias para la variable porcentaje de Poliembrionía (PE), se formaron 3 grupos estadísticos, donde los mejores genotipos fueron 1, 4, 16 y 17 con valores de 21.3 a 10.7% sobresaliendo el genotipo 4 (21.3%), que a diferencia de Braquítico de alta poliembrionía (1) quien se esperaba tener una tendencia más alta sin embargo solo obtuvo un 16% de PE, ya que teóricamente estos genotipos deberían tener la tendencia de presentar de 100 a 25% de su germoplasma poliembriónico; sin embargo la tendencia se fue dando por que los genotipos 3, 5, 7, 13 y 19 obtuvieron valores de poliembrionía de 5.3% mostrando una escasa apariencia de esta característica, fue de notar que los genotipos que obtuvieron altos porcentajes de poliembrionía en su germoplasma en la prueba de capacidad de germinación resultaron con poca presencia de poliembrionía, tal vez influidas por la combinación de cruzamientos para llegar a la dosis de germoplasma PE, o por el tipo de herencia del carácter PE, que podría ser de dos loci una interacción epistática doble recesiva (Rebolloza *et al.*, 2011) .

Cuadro 4.4 Comparación de medias de las variables evaluadas en la prueba capacidad de germinación de los genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite.

Identificación	Genotipo	PN (%)	PA (%)	SSG (%)	PE (%)
1	D	62.7 d	33.3 a	4.0ab	16.0 ab
2	DxDG	90.7 ab	9.3 bcd	0.0 c	0.0 c
3	DxDF	76.0 cd	22.7 ab	1.3 bc	5.3 bc
4	DxG	94.7 a	0.0 d	5.3 a	21.3 a
5	DxF	78.7 bc	20.0 abc	1.3 bc	5.33 bc
6	DxEG	100 a	0.0 d	0.0 c	0.0 c
7	DxEF	90.7 ab	8.0 cd	1.3 bc	5.3 bc
8	FFF	97.3 a	2.7 d	0.0 c	0.0 c
9	ExD(G)	100 a	0.0 d	0.0 c	0.0 c
10	GG	100 a	0.0 d	0.0 c	0.0 c
11	GGG	97.3 a	2.7 d	0.0 c	0.0 c
12	FF	94.7 a	5.3 d	0.0 c	0.0 c
13	DxE(F)	94.7 a	4.0 d	1.3 bc	5.3 bc
14	ExDF	98.7 a	1.3 d	0.0 c	0.0 c
15	ExDG	100 a	0.0 d	0.0 c	0.0 c
16	ExG	97.3 a	0.0 d	2.7 abc	10.7 abc
17	ExF	86.7 abc	10.7 bcd	2.7 abc	10.7 abc
18	ExEF	98.7 a	1.3 d	0.0 c	0.0 c
19	ExEG	94.7 a	4.0 d	1.3 bc	5.3 bc
20	E	96.0 a	4.0 d	0.0 c	0.0 c
21	AN-447	88.0 abc	8.0 cd	4.0 ab	0.0 c
22	C	98.7 a	1.3 d	0.0 c	0.0 c
23	CxE	100 a	0.0 d	0.0 c	0.0 c
24	ExC	100 a	0.0 d	0.0 c	0.0 c

PN= Plántulas Normales; PA= Plántulas Anormales; SSG= Semillas sin Germinar y PE= Poliembrionía

De acuerdo con esto, los genotipos de 25 % o menos de proporción PE tendrían probabilidades menores de generar este fenotipo por tamaño de muestra reducido; ninguno de ellos presentó el carácter, tal vez por efecto de muestreo.

Vigor

El análisis de varianza mostrado en el Cuadro 4.5, resultó con diferencias significativas en la variable LMP, mientras que en LMR y PS resultaron con diferencias de alta significancia; a pesar de que los valores resultantes en las variables de vigor (LMP, LMR y PS) no fueron tan distantes, la prueba de comparación logró reflejar diferencias en algunos genotipos.

Cuadro 4.5 Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza para las variables evaluadas en la prueba de vigor de los genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite.

F.V	G.L	LMP (cm)	LMR (cm)	PS (mg/pl)
Genotipo	23	4.9*	6.6**	928.3**
Error	48	2.6	2.4	344.6
C.V		15.5	9.1	16.7

** Altamente Significativo; * = Significativo; CV= Coeficiente de Variación; GL= Grados de Libertad; LMP=Longitud Media de Plúmula; LMR= Longitud Media de Radícula; PS= Peso Seco.

En la prueba de comparación de medias mostrada en el Cuadro 4.6, en la variable longitud media de plúmula se formaron 5 grupos estadísticos donde los genotipos 12, 13 y 14 obtuvieron valores entre 12.1 y 12.2 cm considerados de alto vigor por encontrarse en el primer grupo estadístico y de acuerdo con Perry (1987), el más alto vigor en prueba de LMP está dado por un valor de 13 cm; sin embargo en materiales híbridos pudieran rebasar este valor hasta un 15 ó 17 cm como lo mencionan Torres (2004) y Grajales (2009), quienes establecen que la longitud media de plúmula con valores altos puede ser una característica propia de materiales híbridos. Mientras que los genotipos 15 y 22 obtuvieron una LMP de 7.6 cm y 8.2 cm respectivamente, mostrando ser los genotipos con menor vigor y ubicarse en el último grupo estadístico.

La falta de vigor es una cuestión diferente, ya que se puede apreciar en plántulas que se consideran normales, es decir, completas, intactas y sana muestran escaso vigor en la LMP como lo menciona Besnier (1989).

Cuadro 4.6 Comparación de medias de las variables evaluadas en la prueba de vigor de los genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite y contenido de aceite.

Identificación	Genotipo	LMP (cm)	LMR (cm)	PS (mg/pl)
1	D	9.3bcde	14.9 fg	137.1 a
2	DxDG	11.6 abc	13.9 g	131.4 ab
3	DxDF	10.4 abcd	14.9 efg	132.1 ab
4	DxG	9.1 cde	19.2 ab	107.6 abcdef
5	DxF	9.2 cde	16.9 bcdef	108.0 abcdef
6	DxEG	10.3 abcd	15.9 defg	124.9 abcd
7	DxEF	11.3 abc	16.3 cdefg	105.4 bcdef
8	FFF	11.9 ab	20.4 a	69.9 g
9	ExD(G)	11.3 abc	17.3 bcde	123.5 abcd
10	GG	10.2 abcd	16.3 defg	101.7 bcdef
11	GGG	9.8 abcde	18.1 abcd	129.9 abc
12	FF	12.1 a	17.3 bcde	113.5 abcdef
13	DxE(F)	12.2 a	17.8 bcd	91.8 efg
14	ExDF	12.1 a	16.8 bcdef	100.0 cdefg
15	ExDG	7.6 e	15.8 defg	128.4 abc
16	ExG	9.3 bcde	18.67 abc	94.7 defg
17	ExF	11.1 abc	17.0 bcdef	137.7 a
18	ExEF	11.9 ab	16.8 bcdef	90.0 efg
19	ExEG	10.5 abcd	17.4bcde	86.1 fg
20	E	11.5 abc	16.2 cdefg	115.8 abcdef
21	AN-447	10.6 abcd	15.6 defg	108.6 abcdef
22	C	8.1 e	16.9 bcdef	103.4 bcdef
23	CxE	9.5 abcde	17.5bcde	102.0 bcdef
24	ExC	10.7 abcd	18.7 abc	117.1 abcdef

LMP=Longitud Media de Plúmula; LMR= Longitud Media de Radícula; PS= Peso Seco.

En la prueba de comparación de medias para LMR en el mismo Cuadro 4.6, se puede observar que se conformaron 7 grupos, donde los genotipos 4, 8, 11 y 16 obtuvieron longitudes desde 20.4 a 18.1 cm siendo los mejores en cuanto

esta variable, mientras que los genotipos 1, 2 y 3 obteniendo los valores más bajos por lo tanto son los de menor vigor desde 14.9 a 13.9 cm de longitud.

Dentro del análisis de comparación de medias para la variable de peso seco (Cuadro 4.6), se encontró que los materiales se agruparon estadísticamente en 7 grupos, los genotipos 1, 2, 3 y 17 con valores de 137.7 a 131.1 mg/plántula siendo los mejores, debido a que estos genotipos presentaron una poliembrionía en su germoplasma emergiendo doble o triple plúmula, reflejando un alto contenido de nutrientes y por tanto mayor peso seco como lo describen Espinoza *et al.* (1999). En cambio, los genotipos 8 y 19 obtuvieron el menor vigor por obtener valores de 69.9 y 86.1 mg/plántula respectivamente, que como es sabido, los genotipos que contienen alto contenido de aceite no tienen suficiente calidad en la producción de materia seca y probablemente se deba a el bajo vigor que presentaron dichos genotipos ya que es utilizado como fuente energía en el metabolismo de la misma para su proceso de germinación.

En los resultados del análisis de varianza para vigor mediante la prueba de envejecimiento acelerado que se presentan en el Cuadro 4.7, se puede mostrar que las variables Plántulas Normales después del Envejecimiento Acelerado (PNEA), Plántulas Anormales después del Envejecimiento Acelerado (PAEA) y Poliembrionía después del Envejecimiento Acelerado (PEEA) resultaron con diferencias altamente significativas; mientras que para Semilla Sin Germinar después del Envejecimiento Acelerado (SSGEA) no hubo significancia entre los genotipos.

Cuadro 4.7 Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza para las variables evaluadas en la prueba de envejecimiento acelerado de los genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite.

F.V	G.L	PNEA (%)	PAEA (%)	SSGEA (%)	PEEA (%)
Genotipo	23	365.9**	289.8**	17.7NS	582.4**
Error	48	125.3	104.8	11.7	37.7
C.V		12.4	141.8	121.1	70.4

** Altamente Significativo; NS= No Significativo; CV= Coeficiente de Variación; GL= Grados de Libertad; PNEA= Plántulas Normales Envejecimiento Acelerado; PAEA= Plántulas Anormales Envejecimiento Acelerado; SSEA= Semillas sin Germinar Envejecimiento Acelerado y PEEA= Poliembrionía Envejecimiento Acelerado.

El resultado de la prueba de comparación de medias Cuadro 4.8 para la variable PNEA los materiales formaron 4 grupos estadísticos, donde los genotipos 12, 13 y 23 obtuvieron valores de 100% siendo los mejores en esta variable y ubicados en el primer grupo estadístico, así mismo los genotipos 6 y 23 resultaron ser los mismos genotipos que obtuvieron también los más altos porcentajes de PN antes del envejecimiento; mientras que 11, 12, 13 y 19 después del envejecimiento aumentaron su porcentaje de plántulas normales, marcando que su alta calidad fisiológica de estos genotipos coincidiendo con Perreti (1994) quien menciona que la calidad es dada por el alto número de plántulas normales en una prueba tanto de germinación como de vigor. Los materiales con menor número de plántulas normales fueron 1, 3, 14 y 22 que a pesar de su bajo porcentaje en PN estos aumentaron el porcentaje después del envejecimiento acelerado.

En lo referente a plántulas anormales resultantes del envejecimiento acelerado, los genotipos formaron 4 grupos estadísticos en la prueba de comparación de medias, donde los genotipos 1, 14 y 22 seguidos por 3 y 20 fueron los materiales de baja calidad, con valores desde 18.7 hasta 44 %, indicando que al ser sometidos a estrés se ven afectados en su germinación causando anomalías en las plántulas y por consecuencia bajando su calidad expresando una influencia negativa por el ambiente, Besnier (1989), menciona

que las plántulas emergidas no se desarrollan satisfactoriamente, debido a cuestiones de tipo morfológico provocando plántulas que difícilmente puedan dar lugar a plantas capaces de vegetar adecuadamente, Ramírez (2010), hace mención que hay la posibilidad que necesiten más días para su desarrollo. Esto se observó con frecuencia en los genotipos con germoplasma poliembriónico, que requieren 2 ó 4 días más para germinar que las semillas no-PE. El resto de los materiales presentaron mínimos porcentaje de plántulas anormales incluso de cero por ciento.

Cuadro 4.8 Comparación de medias de las variables evaluadas en la prueba de envejecimiento acelerado de los genotipos de maíz con porcentaje de poliembriónía y contenido de aceite.

Identificación	Genotipo	PNEA (%)	PAEA (%)	SSGEA (%)	PEEA (%)
1	D	78.7 bc	18.7 bc	2.7 bc	22.7 cd
2	DxDG	90.7 ab	5.3 cd	4.0 abc	54.7 aq
3	DxDF	78.7 bc	12.0 bcd	9.3 a	13.3 de
4	DxG	92.0 ab	6.7 bcd	1.3 bc	33.3 b
5	DxF	94.7 ab	1.3 d	4.0 abc	0.0 f
6	DxEG	97.3 a	1.3 d	1.3 bc	29.3 bc
7	DxEF	89.3ab	9.3 bcd	1.3 bc	4.0 ef
8	FFF	97.3 a	2.7 cd	0.0 c	2.7 f
9	ExD(G)	93.3 ab	5.3 cd	1.3 bc	0.0 f
10	GG	89.3 ab	6.7 bcd	4.0 abc	16.0 d
11	GGG	98.7 a	0.0 d	1.3 bc	17.3 d
12	FF	100.0 a	0.0 d	0.0 c	4.0 ef
13	DxE(F)	100.0 a	0.0 d	0.0 c	0.0 f
14	ExDF	70.7 c	22.7 b	6.7 ab	0.0 f
15	ExDG	89.3 ab	5.3 cd	5.3 abc	0.0 f
16	ExG	93.3 ab	4.0 cd	2.7 bc	5.3 ef
17	ExF	93.3 ab	4.0 cd	2.7 bc	1.3 f
18	ExEF	94.7 ab	1.3 d	4.0 abc	2.7 f
19	ExEG	98.7 a	1.3 d	0.0 c	0.0 f
20	E	82.7 abc	13.3 bcd	6.7 ab	0.0 f
21	AN-447	90.7 ab	6.7 bcd	2.7 bc	0.0 f
22	C	52.0 d	44.0 a	4.0 abc	2.7 f
23	CxE	100.0 a	0.0 d	0.0 c	0.0 f
24	ExC	96.0 ab	1.3 d	2.7 bc	0.0 f

PNEA= Plántulas Normales Envejecimiento Acelerado; PAEA= Plántulas Anormales; Envejecimiento Acelerado; SSEA= Semillas sin Germinar Envejecimiento Acelerado y PEEA= Poliembriónía Envejecimiento Acelerado.

Los genotipos que contienen tanto poliembrionía como altos contenidos de aceite, al ser sometidos a estrés, tienen una respuesta negativa en la germinación por presentar mayor número de plántulas anormales, posiblemente debido a que el metabolismo de la semilla se ve afectado por la temperatura (42 °C) utilizada en la prueba, presentando tal vez una desnaturalización de proteínas en el caso de los poliembriónicos y oxidación en los ácidos grasos de los genotipos con alto contenido de aceites reflejando el aumento de las anormalidades.

En la comparación de medias de la variable de semillas sin germinar después del envejecimiento acelerado, mostró 3 grupos estadísticos donde los genotipos 8, 12, 13, 19 y 23 fueron los mejores al no presentar semillas sin germinar como se muestra en el Cuadro 4.8; estos genotipos fueron los mismos que presentaron cero por ciento en la prueba de germinación antes del envejecimiento, por lo que reafirma su alta calidad fisiológica, mientras que los genotipos 3, 14, 15 y 20 quienes tuvieron valores de 9.3 a 5.3% y seguidos de 2, 5, 10, 18 y 22 (todos con valores de 4%) fueron los que presentaron menor vigor por tener altos porcentajes de SSG sin embargo se incrementaron al ser envejecidas.

En el porcentaje de poliembrionía se tuvo una relación positiva después del envejecimiento, y que en la mayoría de los genotipos existió un incremento en el porcentaje, debido tal vez a la influencia del estrés al cual fueron sometidos, ya que en la prueba de comparación de medias se encontraron 6 grupos estadísticos, donde los mejores genotipos fueron 1, 2, 4 y 6 con porcentajes desde 54.7 a 22.7, resaltando el genotipo 2 quien antes del envejecimiento no presentó porcentaje de poliembrionía y después obtuvo un 54.6 %, mientras que en algunos materiales, como 16 y 17, el estrés del envejecimiento

disminuyó su porcentaje de poliembrionía, siendo seriamente afectados mostrados en el Cuadro 4.8.

En el siguiente Cuadro 4.9, se puede observar los resultados del análisis de varianza para las variables Longitud Media de Plúmula después del Envejecimiento Acelerado (LMPEA) y Peso Seco después del Envejecimiento Acelerado (PSEA), dando diferencias altamente significativas en los genotipos evaluados, mientras que para la variable Longitud Media de Radícula después del Envejecimiento Acelerado (LMREA) no existió significancia entre ellos. Tal comportamiento entre los materiales se debió a lo que ya se ha estado describiendo, por la diferente calidad fisiológica que presentan, mayor o menor efecto en la longitud de la plúmula.

Cuadro 4.9 Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza para las variables LMP, LMR y PS en la prueba de envejecimiento acelerado de los genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite.

F.V	G.L	LMPEA (cm)	LMREA (cm)	PSEA (mg/pl)
Genotipo	23	4.7**	8.0NS	1775.2**
Error	48	1.7	8.0	626.3
C.V		12.7	17.6	23.09

** = Altamente significativo; NS= No significativo; C.V.= Coeficiente de Variación, GL= Grados de libertad; LMPEA= Longitud Media de Plúmula Envejecimiento Acelerado, LMREA= Longitud Media de Radícula Envejecimiento Acelerado, PSEA= Peso Seco Envejecimiento Acelerado.

Como se puede observar en el Cuadro 4.10 de la comparación de medias, se encontró que los genotipos tuvieron una respuesta de vigor diferente en la variable LMPEA, dando un total de 5 grupos estadísticos, donde los genotipos 8, 9, 19 y 23 obtuvieron valores de 12.4 a 11.9 cm siendo los mejores genotipos, mostrando que el estrés no afectó en gran manera esta variable a excepción del genotipo 14, quien antes del envejecimiento tenía una longitud de 12.1 cm considerada de buen vigor y después del envejecimiento disminuyó hasta 6.9 cm siendo de bajo vigor.

Cuadro 4.10 Comparación de medias de las variables LMP, LMR y PS en la prueba de envejecimiento acelerado de los genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite.

Identificación	Genotipo	LMPEA (cm)	LMREA (cm)	PSEA (mg/pl)
1	D	9.3e	18.3 abc	90.0cde
2	DxDG	9.9 bcde	19.3 ab	103.9 bcde
3	DxDF	9.6 cde	16.3 abcd	103.8 bcde
4	DxG	11.7 cde	14.3 d	127.5 bcd
5	DxF	10.8 abcd	15.0 bcd	87.5 de
6	DxEG	10.9 abcd	15.37 abcd	93.7 cde
7	DxEF	9.5 de	17.6 abcd	111.5 bcde
8	FFF	12.2 a	15.3 abcd	82.7 e
9	ExD(G)	11.9 ab	17.8 abcd	95.5 cde
10	GG	9.9 bcde	13.5 d	104.3 bcde
11	GGG	11.5 abcde	16.0 abcd	110.1 bcde
12	FF	11.8 abc	16.0 abcd	108.6 bcde
13	DxE(F)	11.7 abcd	15.3 abcd	101.2 bcde
14	ExDF	6.9 f	15.3 abcd	130.1 bc
15	ExDG	11.5 abcde	13.3 d	141.3 b
16	ExG	10.9 abcde	15.5 abcd	99.5cde
17	ExF	10.2 abcde	14.5 bcd	88.7 de
18	ExEF	11.7 abcd	15.3 abcd	97.2 cde
19	ExEG	11.9 ab	17.3 abcd	103.9 bcde
20	E	9.6 cde	15.9 abcd	97.1 cde
21	AN-447	11.5 abcde	16.2 abcd	127.9 bcd
22	C	11.7 abcd	17.4 abcd	199.9 a
23	CxE	11.2 ab	15.9 abcd	101.2 bcde
24	ExC	9.9 bcde	19.7 a	94.1 cde

LMPEA= Longitud Media de Plúmula Envejecimiento Acelerado, LMREA= Longitud Media de Radícula Envejecimiento Acelerado, PSEA= Peso Seco Envejecimiento Acelerado.

En lo que se refiere a la variable LMREA, el comportamiento en algunos genotipos después del envejecimiento aumentaron y en otros disminuyeron un poco no siendo grandes las diferencias entre ellos, dando 4 grupos estadísticos, marcando a 1, 2, 7, 9, 19, 22 y 24 fueron los de mejor calidad por presentar los valores más altos en esta variable, mientras 10 y 15 obtuvieron 13.5 y 13.3 cm respectivamente los cuales fueron de menor vigor por presentar los valores más bajos, de acuerdo con Miguel y Gavilanes (1994) encontraron que al emplear

pruebas de estrés, el crecimiento radicular es más lento disminuyendo el vigor de las semillas.

En la prueba de comparación de medias para la variable peso seco de las plántulas después del envejecimiento acelerado demostró 5 grupos estadísticos, donde los genotipos 14 (130.3 mg/plántula), 15 (141.3 mg/plántula) y 22 (199.9 mg/plántula) fueron los de mayor calidad como se muestra en el Cuadro 4.10; el envejecimiento acelerado afectó a algunos genotipos en el acumulo de materia seca en las plántulas, como por ejemplo en el genotipo 22, aumentó considerablemente su peso seco, mientras que en otros se dio lo contrario como en los genotipos 5, 8 y 17 donde sus valores fueron de 88.68 al 82.66 mg/plántula siendo de menor calidad, afectando de una manera considerable la temperatura y la humedad relativa de la prueba.

Calidad bioquímica

Contenido de proteínas

Los resultados del análisis de varianza para la cuantificación de proteínas, mostró que para las proteínas albúmina y globulina existió alta diferencia significativa entre los genotipos evaluados, mientras que para las proteínas zeína y glutelina no hubo diferencia entre los genotipos, como puede observarse en el Cuadro 4.11.

Cuadro 4.11 Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza para las variables evaluadas en la prueba bioquímica de los genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y con tenido de aceite.

F.V	G.L	ALB (μg /mL)	GLOB (μg /mL)	ZEI (μg /mL)	GLUT (μg /mL)
Genotipo	23	147856.3**	115465.3**	7868.6NS	19579.4NS
Error	48	13830.5	7242.0	4669.7	12902.6
C.V		103.8	31.3	-136.6	20.4

** = Altamente significativo; NS= No significativo; C.V.= Coeficiente de Variación, GL= Grados de libertad; ALB.= Albumina; GLOB.= Globulina; ZEI.= Zeína y GLUT.= Glutelina.

La comparación de medias de la variable albúmina (Cuadro 4.12), mostró 10 grupos estadísticos, donde los genotipos 14, 15, 16, 17 y 18 obtuvieron las más altas concentraciones de albúmina oscilando entre 406.47 a 540.33 $\mu\text{g}/\text{mL}$, seguidos de los genotipos 8, 9, 10, 11, 12 y 13, por tener valores positivos y formando parte de los grupos B hasta el H entre 141.0 a 245.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$. En la misma prueba se encontró que 1, 2, 3, 4 y 5 obtuvieron los valores positivos más bajos de esta proteína desde 1.8 a 66.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$; es importante mencionar como se observa en el mismo cuadro, que existió un grupo de genotipos con valores negativos en su determinación esto se debe a que la concentración de la proteína fue muy baja y el espectrofotómetro registró una concentración en número negativos como fueron 6, 7, 19, 20, 21, 22, 23 y 24.

En lo referente a la variable globulina, la prueba de comparación de medias registró que los genotipos formaron 7 grupos estadísticos, donde sobresalieron 5, 8, 10, 15 y 18 con las más altas concentraciones desde 458.10 a 428.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, es interesante mencionar que existieron otros genotipos que formaron parte de este primer grupo en albumina y también se dieron lugar como primer grupo en la globulina como fueron 9, 11, 12 y 13, lo cual quiere decir que estos materiales poseen proteínas de tipo estructural produciendo un mayor número de plántulas normales dado en un alto porcentaje de germinación como se mencionó anteriormente. En cambio los genotipos que no presentaron contenido de globulina como 6, 7, 23 y 24, son los mismos que no presentaron

la anterior proteína (albumina), esto posiblemente se deba al progenitor común (E), que cuando este no está como hembra pudiera tener algún efecto no presentando proteínas estructurales y disminuyendo su contenido de ácido graso (González, 2009).

Cuadro 4.12 Comparación de medias de las variables evaluadas en la prueba bioquímica de los genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite.

Identificación	Genotipo	ALB (μg /mL)	GLOB (μg /mL)	ZEI (μg /mL)	GLUT (μg /mL)
1	D	60.5 efgh	278.2 cde	-91.6 cde	529.8 bcd
2	DxDG	1.8 fghi	275.2 cdef	-2.1 abcde	548.9 bc
3	DxDF	66.9efgh	287.6 bcde	-64.9 bcde	477.9 cd
4	DxG	59.5 efgh	222.4 def	38.5 ab	572.4 abc
5	DxF	62.7 efgh	428.2 a	-28.3 abcde	560.2 abc
6	DxEG	-227.6 j	-180.2 h	-109.5 de	589.4 abc
7	DxEF	-120.3 hij	-132.7 gh	-112.7 e	459.0 cd
8	FFF	164.6 def	439.1 a	50.6 a	5996.1 abc
9	ExD(G)	141.0 efgh	420.6 ab	6.7 abc	543.2 bc
10	GG	169.1 def	431.0 a	38.3 ab	624.3 abc
11	GGG	245.5 cde	411.4 abc	-91.6 cde	552.0 bc
12	FF	173.7 def	328.9 abcde	-43.6 abcde	503.1 cd
13	DxE(F)	291.7 bcd	369.2 abc	-99.2 cde	439.4 cd
14	ExDF	411.6 abc	422.6 ab	-81.3 cde	557.7abc
15	ExDG	477.7 ab	458.1 a	-28.7 abcde	506.3 cd
16	ExG	406.5 abc	350.0 abcd	-53.5 abcde	739.7 a
17	ExF	480.7 ab	364.0 abc	-93.2 cde	603.2 abc
18	ExEF	540.3 a	443.5 a	-60.4 abcde	708.1 ab
19	ExEG	-36.6 ghij	371.12 abc	-110.1 de	549.2 bc
20	E	-38.9 ghij	326.2 abcde	-35.7 abcde	576.5 abc
21	AN-447	-30.3 ghi	207.1 ef	-34.4 abcde	347.0 d
22	C	-153.8 hij	135.7 f	-112.7 e	588.8 abc
23	CxE	-84.7 hij	-22.3 g	-86.2 cde	570.9 abc
24	ExC	-111.5 hij	-126.5 gh	1.1 abcd	607.3 abc

ALB.= Albuminas; GLOB.= Globulinas; ZEI.= Zeinas y GLUT.= Glutelinas.

Para los resultados de contenido de zeína, la prueba de comparación de medias resultó con 5 grupos estadísticos, donde los genotipos 4 (38.36 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 8 (50.63 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 9 (6.72 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 10 (38.36 $\mu\text{g}/\text{mL}$), y 24 (1.12 $\mu\text{g}/\text{mL}$), fueron

los únicos que presentaron una concentración de proteína en la semilla, sobresaliendo el genotipo 8, quien ha resultado tener proteínas estructurales y ahora una funcional dando un alto vigor en la semilla.

En lo que se refiere a la concentración de glutelina, todos los genotipos presentaron mayor concentración que en las otras proteínas y en la prueba de comparación de medias se formaron solo 4 grupos estadísticos, presentando la mayoría de genotipos entre los primeros tres grupos estadísticos, siendo 4, 5, 6, 8, 10, 14, 17, 18, 20, 21, 22, 23 y 24 con los valores más altos desde 708.1 a 560.2 $\mu\text{g/mL}$; así mismo el genotipo 16 sobresalió de todos los materiales por presentar el mayor valor y estar en el primer grupo junto con los anteriores con 739.7 $\mu\text{g/mL}$, teniendo un alta calidad fisiológica, debido a la presencia de esta proteína funcional que tiene una actividad directamente relacionada con el vigor de la semilla según Torres (2004); en cambio los genotipos 1, 3, 7, 12, 13, 15 y 21 (AN-447) resultaron con una baja concentración donde esta último obtuvo el menor valor de esta proteína 347.0 $\mu\text{g/mL}$. Teniendo baja calidad en la prueba de germinación pero aumentado después del envejecimiento acelerado

Tipo de proteína

Tipos de bandas en albumina

Los resultados obtenidos en la electroforesis vertical para la identificación de proteínas y péptidos en albumina, se encontró que los genotipos 14, 15, 16, 17 y 18 presentaron una banda con un peso molecular de 200 Kd como se muestra en la Figura 4.1, y en el caso de los genotipos 14 y 15 otra banda de 116.2 Kd lo cual se puede mencionar que estos dos genotipos presentan el mismo tipo de albumina mostrando porcentajes de germinación similares; mientras que 16 presentó otra banda de bajo peso molecular (97.4 Kd) seguido del genotipo 18 con otra banda de 66.2 Kd; es de notar en la misma Figura que el 17 presenta

mayor número de bandas de bajo peso molecular traducidos en fracciones de polipéptidos, que a lo largo del estudio es interesante observar que su germinación es baja pero al momento de envejecer la semilla incrementa su porcentaje de vigor en plántulas normales, longitud media de plúmula y radícula.

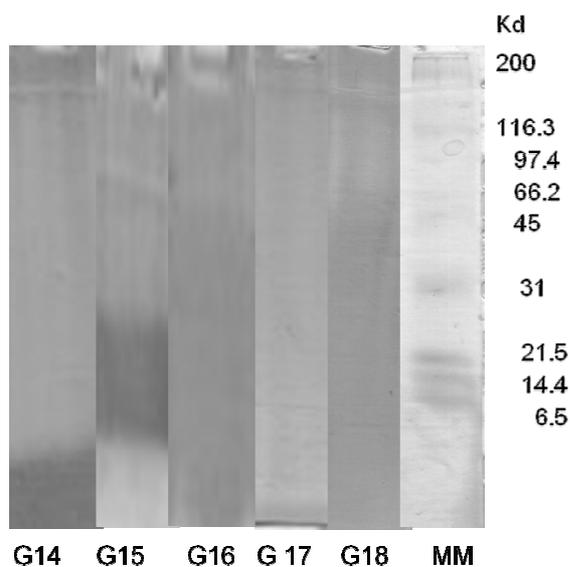


Figura 4.1 Albuminas en gel de SDS-PAGE en genotipos de maíz con porcentaje de poliembriónía y contenido de aceite.

Tipo de bandas en globulina

En la Figura 4.3 se muestra la proteína globulina donde se puede observar la coincidencia de bandas existentes en la separación por electroforesis PAGE-SDS, los genotipos 5, 8, 10, 14 y 18 presentaron bandas con peso molecular de 200 y 116.3 Kd, el 9 presento una sola banda de proteína siendo su valor de 200 Kd siendo de alta calidad ya que presenta germinación del 100% bajando ligeramente su porcentaje al 93.3% después del envejecimiento acelerado y presentando altos valores en cuanto a LMP, LMR y PS, los genotipos 11 y 15 fueron los que presentaron una bandas adicional de bajo peso molecular con

valor de 6.5 Kd, ambos genotipos presentaron alta calidad en la prueba de germinación con porcentajes de germinación de 97.3 y 100 % respectivamente conservando su calidad el genotipo 11 después del envejecimiento acelerado y el 15 disminuye, por ser una proteína de alto peso molecular y solo dos genotipos presentaron fracciones de polipéptidos de bajo peso molecular.

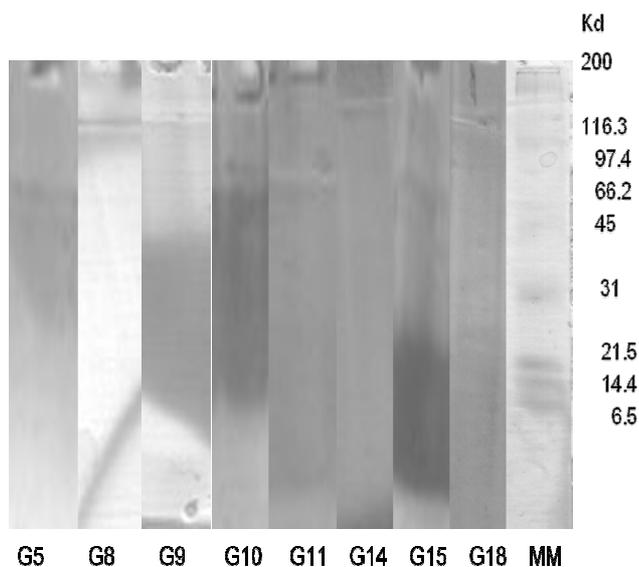


Figura 4.2 Globulinas en gel de SDS-PAGE en genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite.

Tipo de bandas en zeína

En cuanto a la separación de zeína (Figura 4.3) las fracciones de polipéptidos se redujeron y fueron de bajo peso molecular con valores de 66.2 y 6.5 Kd, donde los genotipos 8 y 9 fueron los que presentaron la banda de más alto peso (66.2 Kd), los genotipos 4 incluyendo también al 8 y 9 presentaron polipéptidos de 45 a 14.4 Kd, siendo el genotipo 10 el que presentó más bandas adicionales y de bajo peso molecular de 14.5 y 6.5 Kd, presentando un porcentaje de germinación de 100 % de PN pero siendo perjudicado por el envejecimiento acelerado.

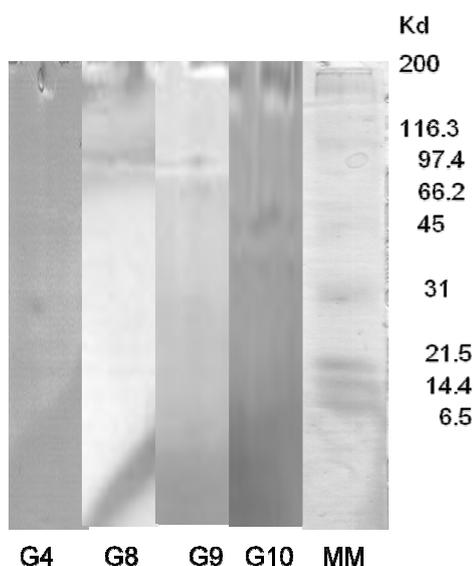


Figura 4.3 Zeína en gel de SDS-PAGE en genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite.

Tipo de bandas en glutelina

En el caso de las bandas obtenidas de la proteína glutelina al igual que las zeínas también fueron pocas y de bajo peso molecular a excepción del genotipo 24 quien presentó una banda de 97.4 Kd y una banda adicional de 21.5 Kd presentando un 100% de PN en la prueba de germinación y resultando el mejor en cuanto LMR, se puede observar que los genotipos 10 y 18 presentaron el mismo número de bandas el mismo peso molecular con valores de 21.5 a 6.5 Kd por lo tanto tiene la misma constitución genética de esta proteína, el genotipo 17 presentó solo una fracción de polipéptidos con valor de bajo peso molecular de 6.5 Kd, quien en la prueba de germinación aumentó su porcentaje de PN de 86.7% a un 93.3% PN, (Figura 4.4).

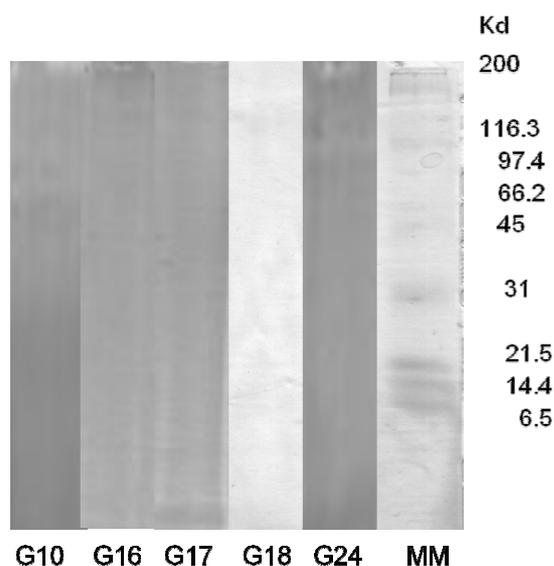


Figura 4.4 Glutelinas en gel de SDS-PAGE en genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite.

Relación entre Variables

En el Cuadro 4.13 se aprecia los coeficientes de correlación de las variables estudiadas con cuatro componentes o factores principales se explica un poco más del 50% de la varianza total, donde el primer factor contuvo un 20.90 del porcentaje de la varianza acumulada y explicó principalmente la relación que hay entre LMR, PS, PNEA, PAEA, LMPEA, (mayor vigor después del EA) y contenidos de ZEI y GLUT; el segundo factor explicó un 13.5 por ciento de la varianza acumulada explicando la relación que existe entre PNEA, SSGEA y ALB, el tercer factor contuvo un 12.1 por ciento de la varianza y explicó la relación de las variables de PV, CH, LMP y ZEI; por último el cuarto factor expresó un 10.5 por ciento de la varianza acumulada, explicando principalmente el efecto del peso seco y el envejecimiento acelerado

Cuadro 4.13 Coeficiente de correlación de variables con los factores, eigenvalores y varianza explicada para los genotipos de maíz con porcentaje de poliembrionía y contenido de aceite.

VARIABLES	FACTOR 1	FACTOR 2	FACTOR 3	FACTOR 4
PV	.300805	-.363534	*.532756	-.383232
CH	-.031876	.350987	*.679437	-.326115
PMS	.097999	-.466437	-.022069	-.253241
PN	.280778	-.002869	-.313402	.080798
PA	-.489911	.282489	.061456	-.486962
SSG	.210772	-.272826	-.334382	-.155129
PE	-.050701	.264032	.496033	-.369252
LMP	.318023	.024535	*-.581086	-.126309
LMR	*.773178	-.043205	.370712	.225602
PS	*-.639668	.269653	-.023449	-.426588
PNEA	*.694504	*.535831	-.315771	-.220987
PAEA	*-.639549	-.471069	.365629	.326777
SSGEA	*-.598017	*-.560784	-.078835	-.320581
PEEA	-.289854	.444596	.239832	-.270158
LMPEA	*.557930	.222834	.128717	.350432
LMREA	-.396589	.451547	-.105374	.210261
PSEA	-.418358	-.434242	.264183	*.622903
ALB	.342693	*-.603034	-.162476	-.435203
GLOB	.335172	-.487198	-.035699	-.467950
ZEI	*.524530	-.048294	*.551333	.004345
GLUT	*.577890	-.064197	.365735	.034443
Expl.Var	4.390523	2.842795	2.541445	2.266228
Var	4.39052	7.23332	9.77476	12.04099
Acumulada				
% Var Acum.	20.90725	34.44437	46.54649	57.33805
Proporción	.209073	.135371	.121021	.107916
Total				

Expl. Var= Varianza explicada, Var Acumulada= varianza acumulada, % Var Acum.= Porcentaje de varianza acumulada, Proporción total

Lo anterior se puede explicar gráficamente en la Figura 4.5 donde en cada cuadrante se establece una relación positiva entre las variables contenidas y adicionalmente se establecen relaciones con cada componente; así, se puede observar en el cuadrante superior derecho la relación positiva entre plántulas normales, longitud media de plúmula y longitud media de radícula; con relación

al primer componente principal, se establece una estrecha relación positiva de dichas variables con el contenido de zeínas y glutelinas.

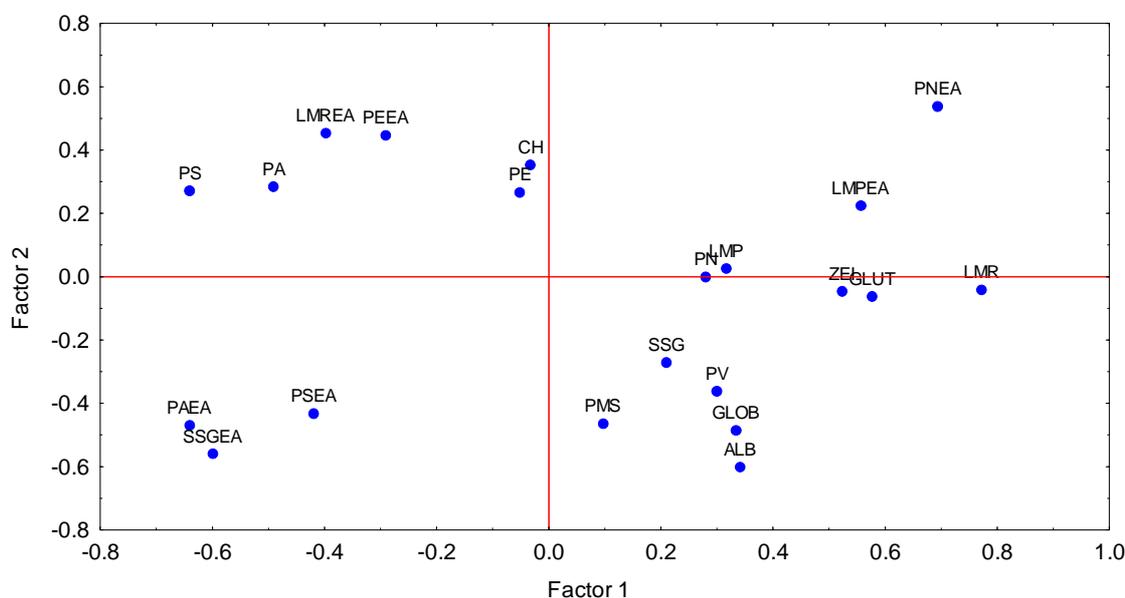


Figura 4.5 Relación entre variables estudiadas con base a los factores en estudio (físico, fisiológico y bioquímico).

Por lo anterior, se puede afirmar que la capacidad de germinación y vigor está directamente relacionada con las proteínas zeínas y las glutelinas principalmente.

En el cuadrante inferior derecho se observa la asociación de albuminas y globulinas con el peso volumétrico, peso de mil semillas así como en porcentaje de semillas sin germinar. En el cuadrante inferior izquierdo se establece la relación entre el peso seco plántulas anormales y semillas sin germinar después del envejecimiento acelerado es de observar que para el caso de estas variables en contenido de proteínas se relaciona negativamente, por último en el cuadrante superior izquierdo las variables que se relacionan son el contenido de humedad, poliembrionía y el vigor. Resalta en este estudio

la relación negativa que parece existir entre la PE y las proteínas estudiadas por encontrarse en cuadrantes opuestos.

Relación entre genotipos

En cuanto a la relación de genotipos dado por el porcentaje de germoplasma presente de poliembrionía se encontró que en cada cuadrante se establece una relación positiva entre los germoplasmas y adicionalmente se establecen relaciones con cada componente; así, se puede observar en el cuadrante superior derecho existe una la relación positiva entre los germoplasmas que contienen cero por ciento de germoplasma poliembrionico (CxE) y de 25 a 75% de poliembrionía teniendo en común al genotipo G como se muestra en la Figura 4.6, con relación al primer componente principal, estableciendo una estrecha relación positiva entre los genotipos 19 con el genotipo 12.

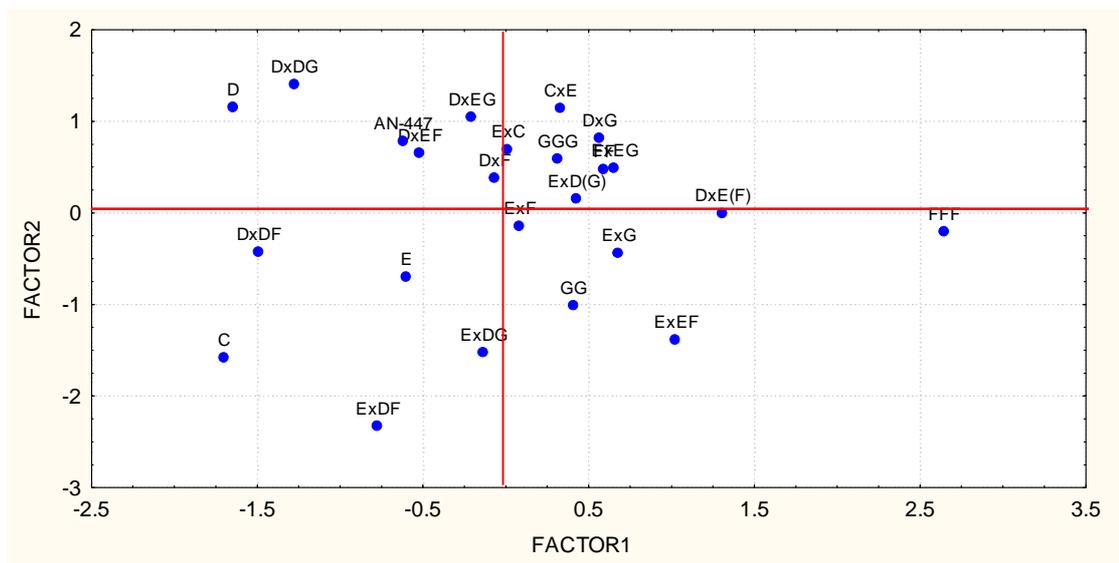


Figura 4.6 Relación entre genotipos estudiados con base a los factores en estudio (físico, fisiológico y bioquímico).

En el cuadrante inferior derecho como se observa en la misma Figura 4.6, la asociación de genotipos con germoplasma entre 25 a 50% de poliembrionía descartando la relación del genotipo 10 y 16 con el 18. En el cuadrante inferior izquierdo se establece la relación entre el germoplasma que no tiene poliembrionía y los que tienen un 37.5% de ella como era de esperarse porque se trata del tuxpeño de alto aceite y del normal de alta poliembrionía relacionándose de forma negativa, por último en el cuadrante superior izquierdo los genotipos de 100, 87.5, 75 y 62.5% de poliembrionía siendo el común entre ellos el genotipo D; así mismo en ese cuadrante se encontró al testigo AN447 con relación al cuarto componente principal, estableciendo una estrecha relación entre el genotipo DXEF con AN447. Resalta en este estudio la relación negativa que pudiera existir entre los genotipos que tienen un alto porcentaje de germoplasma PE (100 a 62.5 %) y los que no presentan PE (los genotipos E y C) por encontrarse en cuadrantes opuestos.

V. CONCLUSIONES

Con base a los resultados obtenidos en esta investigación se puede concluir que:

Por medio de los análisis de laboratorio realizadas a las variables consideradas para determinar la calidad de los 24 materiales en estudio de maíz con características de poliembrionía, se demuestra que. El porcentaje de poliembrionía no siempre favorece a la germinación y vigor así como al contenido de proteína.

Existe una relación del comportamiento fisiológico con las características físicas principalmente PV y PMS debido a que las semillas que presentaron mayor volumen y peso fueron las que presentaron mayor número de PN, el CH mostro poca relación con la capacidad de germinación.

Los altos porcentaje de poliembrionía no favorecieron la capacidad de germinación en el caso de los genotipos 1 (D), 3 (DXDF) y 5 (DXF) siendo los más bajos en cuanto a porcentaje de PN presentando mayor número de PA y SSG.

Los materiales con alto porcentaje de poliembrionía presentaron mayor peso seco por la presencia de más de dos plúmulas ejemplo de esta son los genotipos 1 (D), 2 (DXDG) y 3 (DXDF). El EA no perjudicó en este estudio, a LMP, pero si favoreció a la PE ya que después del envejecimiento aumentó el porcentaje de esta variable.

Los genotipos que presentaron mayor contenido de proteínas fueron aquellos en que su progenitor es el tuxpeño con alto contenido de aceite (E) estos genotipos son 10 (GG), 14 (ExDF), 15 (ExDG), 16 (ExG), 17 (ExF) y 18 (ExEF) con mayor contenido de albumina, globulina y glutelina.

La calidad bioquímica (porcentaje y tipo de proteínas estudiadas) influye en la germinación y vigor principalmente en los genotipos 9 (G), 10 (GG), 15 (ExDG), después del envejecimiento acelerado los mejores genotipos fueron 11 (GGG), 12 (FF), 13 (F) y 23 (ExC) que son los que presentaron el mayor contenido de albuminas.

Hubo evidencias de una relación negativa entre el contenido de las proteínas evaluadas y la ocurrencia de poliembrionía, sin embargo es necesaria más investigación para poder concluir al respecto.

RESUMEN

En la actualidad existen programas de mejoramiento sobre el cultivo de maíz en algunas instituciones privadas y públicas en las que se pretende contribuir al desarrollo integral, de la nación y sus regiones. Estos programas son generados por diferentes instituciones como es la UAAAN, que a través del Instituto Mexicano del Maíz "Dr. Mario E. Castro Gil" (IMM) a lo largo de varios años han generado poblaciones de maíz con diferentes características de valor nutricional, rendimiento y de porcentajes con poliembrionía de porte normal y enano, así como cruces entre materiales; por ello es importante determinar la calidad de semilla producida de estas poblaciones, donde el presente trabajo se planteó el objetivo de evaluar 24 genotipos de maíz con características poliembriónicas y contenido de aceite, en su calidad física (PV, CH y PMS), fisiológica (germinación y vigor) y bioquímica (tipo y cantidad de albúmina, globulina, zeína y glutelina), entablando una relación entre las variables en estudio. Los datos registrados se analizaron en un diseño completamente al azar con tres repeticiones, así como una prueba de comparación de medias (DMS), utilizando el paquete estadístico SAS; los resultados indicaron que en las pruebas físicas de PV los genotipos 15 y 16 fueron los mejores mientras que para CH los más alto en cuanto a esta variable fueron los genotipos 1, 4 y 23, los genotipos 4, 6, 10 y 14 presentaron mayor peso en cuanto a PMS. Los genotipos 6, 9, 10, 15, 23 y 24 fueron los que presentaron un 100 % de plántulas normales en la prueba de germinación conservando su porcentaje el genotipo 23 después del envejecimiento acelerado y sobresaliendo también el 12 y 13 con el mismo porcentaje de PN. Los materiales 1, 4, 16 y 17 fueron los que presentaron mayor poliembrionía en la capacidad de germinación antes después de un envejecimiento, destacando a 2 y 6 con los más altos porcentajes en la prueba de envejecimiento acelerado. En el contenido de

proteínas los genotipos 14, 15, 16, 17 y 18 fueron los más alto en concentración en la albúmina; los materiales con altos porcentaje de poliembrionía no resultaron con altas concentraciones en esta proteína. , En el contenido de globulina lo mejores fueron el 5, 8, 9, 15 y 18. Para el caso de las zeínas se tuvo menos presencia de esta proteína los genotipos que la presentaron fueron el 4, 8, 9 y 10; por último se tienen a los materiales con altos contenidos de glutelina siendo la proteína que con mejor presencia en todos los materiales evaluados sobresaliendo los genotipos 10, 16, 17 y 18. Se tiene una relación en cuanto al tipo y contenido de proteína en el genotipo 10, que fue el que presentó las cuatro tipos de proteínas presentando calidad fisiológica en la prueba de germinación, en el caso del genotipo 14 que presento altos contenidos de albumina, globulina y glutelina en la prueba de germinación se reflejo su buena calidad pero siendo perjudicado por el envejecimiento acelerado, los que conservaron su calidad antes y después del envejecimiento fueron los genotipos 15, 16, 17 y 18 que se ubicaron en el primer grupos estadístico en albumina, globulina y glutelina.

LITERATURA CITADA

- Antuna G. O, F. Rincón, E. Gutiérrez, N. A. Ruiz, L. Bustamante. 2003. Componentes genéticos de caracteres agronómicos y de calidad fisiológica de semillas en líneas de maíz. UAAAN. México.
- AOSA. (Association of Official Seed Analysts) 1992. Vigor Testing handbook. Contribution No.32 to the handbook of seed testing). USA. 6:1-126.
- Balcarce, I. 2007. Maíz. La calidad del grano.
- Besnier F.R. Semillas. Biología y tecnología (2º edición) Ed. Mundi prensa. Madrid p.637.
- Bjarnason M. and Vasal, S. K. 1992. Breeding of quality protein maize. Plant Breed. Rev. 9: 181-216.
- Boyer, C. D. and Hannah, L. C. 2001. Calidad fisiológica en semillas de maíz con diferencias estructurales. Agricultura Técnica en México. 33(1):53-61.
- Bradford M. M. 1976. A rapid sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Bioquímica 72: 248-254.
- Bustamante, L. A. 1979. La pureza varietal en la producción de semillas. Curso de tecnología de semillas en opción a tesis. Escuela Superior de Agricultura Hermanos Escobar. Ciudad Juárez, Chihuahua. pp 245-25.
- Castro, G. M. 1973. Incremento del carácter doble embrión. Boletín Técnico No. 1 escuela superior de Agricultura Antonio Narro. Buenavista. Saltillo. Coah. Mex. pp. 447.
- Centenal, (1975). Carta Topográfica de Saltillo, G14. 1ª Edición.
- Chávez, A. J. L. (1995). Mejoramiento de Plantas 2. Métodos Específicos de Plantas Alógamas. Ed. Trillas. México, D.F. 143 p.
- Conde, A.; A. García; F. Poey; R. Bressani. (1977). Estudio sobre La relación germen/endospermo en el grano de maíz. PCCMCA. Panamá.

- Coutiño, E.B., A. Ortega C., V.A. Vidal M., G. Sánchez g., S.I. García A. 2008. Selección recurrente para incrementar el contenido de aceite en maíz comiteco. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 31 (3): 5 - 8.
- Cuniberti, M. 2006. Calidad. Un desafío competitivo.
- Dale, N. 1997. Ingredient analysis table: 1997 edition. *Feedstuffs Reference Issue.* Vol. 69. Núm. 30. p. 24-31.
- Delouche J. C. (1980) Environmental effects on seed development and seed quality. *Hort. Sci.* 15: 775-780.
- Delouche, J. C. 1985. Nuevos caminos en la investigación sobre Tecnología de Semillas. *Memorias Tecnológicas de Semillas.* CIAT. Colombia. p.39.
- Dickson, H. M. 1980. Genetic aspects of seed quality. *Hort. Sci.* 15(6):771-773. USA.
- Dudley, J. W., Lambert, R. J. and Alexander, D. E. 1974. Seventy generations of selection for oil and protein concentration in the maize kernel. In J. W. Dudley, ed. *Seventy generations of selection for oil and protein in maize.* Madison, WI. USA, Crop Science Society of America.
- Dudley, J. W. and Lambert, R. J. 1977. Ninety generations of selection for oil and protein in maize. *Maydica*, 37: 81-87.
- Espinoza, V.J., Ma. C. Vega S., D. Jasso C. 1999. Contenidos de grasa y proteína cruda en semillas de maíces poliembriónicos. En: Espinoza V., J y J. del Bosque Celestino (eds). 1999. "Memoria del 2do. Taller Nacional de Especialidades de Maíz. p. 159-165. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Espinoza, J., M.C. Vega, E. Navarro, G.A. Burciaga. 1998. Poliembriónía en maíces de porte normal y enano. *Agronomía Mesoamericana.* 9(2):83-88.
- Ernst, A. (1918)- Bastardierung als ursache der apogamie impflanzenreicht.
- Feed y Grain. 1998. La influencia del maíz alto en aceite en los alimentos para aves. P. 4-7. Vol. de abril, 1998.
- Fisher, D.; Gao, K. M.; King, K. N.; Boyer, C. D. and Gultinan, M. j. 1996. Calidad fisiológica en semillas de maíz con diferencias estructurales. *Agricultura Técnica en México.* 33(1):53-61.
- Food y Agriculture Organization 1993. Informes de organizaciones internacionales sobre sus políticas, programas y actividades en relación con la diversidad biológica agrícola. Parte ii: Centros internacionales de

investigación Agrícola del grupo consultivo sobre investigación Agrícola Internacional. México. p 13. FAO: <http://faostat.fao.org/site>.

- Garay, A E. 1989. La calidad de la semilla y sus componentes. En memorias del primer curso avanzado sobre sistemas de semillas para pequeños agricultores. CIAT. Cali, Colombia. pp. 2-1.
- González, V. V. M. 2009. Formación y caracterización de grupos termoplásticos de maíz, poliembriónico alto contenido de aceite.
- Hallauer, A. R., and J. B. Miranda. 1981. Quantitative Genetics in maize Breeding. Ed. Ames, Iowa, U.S.A. The Iowa States University Press. Pp. 14.
- Hartcamp A. D, White J. W, Rodríguez-Aguilar A, Banzinger M, Hernández G, Bates L A 2000. Modified method for rapid tryptophan analysis in maize. CIMMYT Research Bulletin 13: 3-6.
- International Seed Testing Association. (ISTA) 1996. International Rules for Seed Testing. Rules 1996. Seed Sci. Tech. 24:1-336
- International Seed Testing Association. (ISTA) 2004. International Rules for Seed Testing. P.O. BOX 308, 8303 Basserdorf, CH-Switzerland. Chapter 8.
- Jugenheimer, W.R. 1981. Maíz: Variedades mejoradas, métodos de cultivo y producción de semilla. Edt. Limusa, México.
- Lamkey, K.R., and Lee M. 2006. Plant breeding: *in*: The arnel R. Hallauer International symposium. 1ra ed. Ed. Blackwell Publishing. Australia. pp. 18, 19, 335-337.
- Lehninger, L. A. 1981. Bioquímica de las bases moleculares de la estructura y function celular. Ed. Omega. pp. 285-292..
- Magnavaca, R., Oliveira, A. C., Morais, A. R. Gama, E. E. and Santos, M. Dd. 1989. Family hybrid selection of quality protein maize maydica. 34: 63-71.
- Medina M., E. 1989. Importancia de la longevidad de la semilla de maiz. Tesis Maestria. UAAAN. Saltillo, Coah. Méx. 46 p.
- . Mertz, E.T.; L. S. Bates y O. C. Nelson. (1964). Mutant gene that change protein composition and increases lysini content of maize endosperm Science. 279-280

- Moreno M E, M E Vázquez, A Rivera, R Navarrete, F Esquivel. 1988. Effect of seed shape and size on germination of corn (*Zea mays L.*) stored under adverse conditions. *Seed Sci. Technol.* 26:439-448.
- Moreno M., E. 1996. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Programa universitario de alimentos. Tercera edición. UNAM. México.
- Moreno M., E., Morrones, R. R. y Gutiérrez, R. L. 1978. Diferencia entre líneas, cruza simples y dobles de maíz en su susceptibilidad al daño por condiciones adversas de almacenamiento. *Turrialba.* 28(3):233-237.
- Morgan, D.T. JR.; y Rappleye, R.O. 1951. Polyembryony in maize and lily, following X-irradiation of the pollen. *J. Hered.* 42:91-93.
- Niño Grajales O. A. 2009. Calidad de semilla de trigo forrajero imberbe bajo dos métodos de producción. Tesis de licenciatura , Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Olvera G.J., J. R. Sánchez, R. Ochoa, F. Rodríguez, J. Roque, O. Malvino, C. Ortega, C. Cortes, H. Palacio 1996. *El maíz.* ASERCA, México.
- Perry, D. A. 1987. Introduction; methodology and application of vigour tests; growth and evaluation tests; topographical tetrazolium tests. *Ista. Handbook of vigour tests methods.* 2a edición, zurci, Switzerland, p 72.
- Perry, D. A. 1972 Seed vigour and field establishment. *Hort. Abstr.* 42:334-342.
- Perretti, A. 1994. Manual para el análisis de semillas. INTA. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina. 281 p.
- Pesev, N. R. and Petrovic, L. 1976. Sttudy of possibility in Raising Maize Inbred Lines with Tow Embryos. *Theoretical and Applied Genetics* 47: 197-201.
- Pixley, K. V. and Bjarnason, M. 1993. Combining ability for yield and protein quality among modified endosperm opaque-2 tropical maize inbreds. *Crop Sci.* 33: 1229-1234.
- Poehlman, J. M. 1987. *Breeding field crops.* Westport, CT, USA, AVI Publishing Company.
- Poehlman J. M y S. D Allen. 2003. *Mejoramiento genético de las cosechas.* Traducido por Guzmán, O. M. 2da Edición. Ed. LIMUSA. México, D. F. 509 pp.
- Poey, F. R. 1978. *El mejoramiento integral del maíz: valor nutritivo y rendimiento, hipótesis y métodos.* C. P. S.A.R.H. Chapingo, México.

- Popinigis, F. 1985. Fisiología da Semente. 2ª Ed. Brasilia. 289 p.
- Powell, A. A. 1988. Seed vigour and field establishment. *Advances in Research and Technology of Seeds*.16:419-426.
- Ramírez, M. L. E. 2010. Calidad de semilla en cereales producidos bajo tres densidades de siembra. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. pp 43,54.
- Reyes, C. P. 1990. El maíz y su cultivo. Primera edición. AGT Editor. México. 640 pp.
- Rebolloza H. H. Espinoza V. J., Samano G. D y Zamora V. V. M. 2011. Herencia de la poliembrionía en dos poblaciones experimentales de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana*.
- Roberts, E. H. 1981. Physiology of ageing and its application to drying and storage. *Seed Sci. Tech.* 2:350-372.
- Rodríguez, H. S. 1981. Determinación de la heredabilidad y efectos de la selección para el carácter doble embrión en maíz (*Zea mays* L.) tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo Coah. Mex. Pp. 48.
- Santos M. A. y Esperanza T. F. 1995. Manual de prácticas de bioquímica de alimentos. Universidad Autónoma de Chapingo. pp. 107-109.
- San Miguel-Chávez, R.; Gavilanes-Ruiz, M. 1994. Effect of seed deterioration on nitrate uptake by roots. *Plant Varieties and Seeds* 7: 199-204
- Selvaraj, R. and K. R. Ramaswamy. 1983. Parental influences on seed storability in sorghum hybrids. *Seed Abstracts*. 7:248.
- Servicio Nacional de Inspección Certificación de Semillas (SNICS) 1980. Normas para la Certificación de Semillas. Secretaria de Agricultura y Ganadería Dirección General de Agricultura. México. Citado por Moreno M., E. 1996. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Programa universitario de alimentos. Tercera edición. UNAM. México. p. 260.
- Snook, L.K., cámara-cabrales, L. y Mattew, J.K. 2005. Six years of fruit production by mahogany trees (*Swietenia macrophylla* King): patters of variation and implications for sustainability. *Forest Ecology and Management* 206 (1-3): 221-235.
- Torres T M. A. 2004. Identificación y cuantificación de proteínas en semillas de maíz relacionadas con germinación y vigor. Tesis de Posgrado, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

- Thomson, J. R. 1979. An introduction to seed technology. Thomson Litho Ltd. Great Britain. p. 1-15
- Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV). 1996. Directrices para la ejecución del examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad en Maíz (*Zea mais* L.). TG/02/6 Corr.
- Valdez, L. E. L. 2005. Ganancia en calidad nutrimental del grano como respuesta asociada a la selección para poliembrionía en maíz. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coah. Mex. 2, 3, 4, 92 p.
- Vasal, S. K., S., Pandey y J. Crossa. 1988. Desarrollo de híbridos no convencionales de maíz. In. Reunión bianual de maiceros de la Zona Andina. Chiclayo, Peru. p. 13.
- Vasal, S. K. 1994. High quality protein corn. In A.R. Hallauer, ed. Specialty corns, p. 79-121. Boca Raton, FL, USA, CRC Press.
- Vazquez B. M. E. 1996. Efectos genéticos para calidad fisiológica de semillas, características agronómicas y rendimiento en siete líneas de maíz. Tesis de doctorado, UAAAN, México. pp. 42 y 43.
- Wassom, J. J., V. Mikkeleneni, M. O. Bohn, and T. R. Rocheford. 2008. QTL for fatty acid composition of maize kernel oil in Illinois High OilxB73 backcross-derived lines. *Crop Sci.* 48:69–78.
- Watson S A, J E Freeman 1975. Breeding corn for increased oil content. *in: Proc. 30th Annual Corn and Sorghum Res. Conf.* Chicago, IL. 4-5 Dec. 2005. H D Lodem, D Wilkinson (eds). Am. Seed Trade Assoc., Washington, D.C. 30:251-275.
- Webber, J. M. 1940. Polyembryony. *Bol. Rev.* 6(11):575- 598.
- Woodstock, L. W. 1973. Physiological and biochemical test for seed vigor. *Seed Sci. Technol.* 1:127-157.