



Universidad Autónoma Agraria
Antonio Narro



Estudios Genéticos Sobre la Poliembriónía en Maíz. Análisis Retrospectivo

An Overview of Genetic Studies on Polyembryony in Maize

José Espinoza-Velázquez^{a*}, Lizbeth Valdez-Lara^a, Víctor M. González-Vázquez^a, Noé Musito-Ramírez^a, José E. Gallegos-Solórzano^a, Juana Sánchez-Laureano^a, Adalira G. Villarreal-Cárdenas^a, José M. Alcalá-Rodríguez^a

^aInstituto Mexicano del Maíz, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Colonia Buenavista C.P. 25315

Saltillo, Coahuila, México

Abstract

The multiple seedlings per individual seed or polyembryony in maize (PE) is a well known phenomena supported by suitable experimental results. So far, by means of recurrent selection, two maize populations (dwarf and normal) have been developed; the PE frequency on them is no less than 65%. Concomitant to the selection process, several genetics and agronomical studies have been undertaken in order to bring out advantages and disadvantages of the possible use of PE in the designing of new varieties. In this work, a series of experimental results are analyzed and confronted on subjects such as: possible genetic patterns on the PE phenomena in these two populations; nutrient PE seed qualities; comparisons on germplasm levels of PE and high oil corn; and preliminary results on DNA molecular analysis on the two PE maize populations.

Keywords: *Zea mays* L., populations, recurrent selection, genetics, polyembryony

Resumen

La condición de semilla prolífica o poliembriónica en maíz (PE) es un fenómeno documentado, apoyado con resultados experimentales fehacientes. A la fecha, por vía de selección recurrente, se ha tenido éxito en generar dos poblaciones, enana y normal, con PE igual o superior a 65%. De manera concomitante al proceso selectivo, se han llevado a cabo una serie de estudios de índole genético y agronómico con la finalidad de desentrañar ventajas y desventajas del fenómeno PE con miras a su utilización práctica en el diseño de variedades de maíz especializado. En

* Autor para correspondencia. Tel. Fax: (844) 4110221
Correo electrónico: jespvel@uaan.mx
(J. Espinoza Velázquez)

este trabajo se analizan y confrontan resultados sobre los siguientes temas: probables mecanismos genéticos que intervienen en la expresión de la PE en estas dos poblaciones; las cualidades nutricionales de sus semillas; combinaciones de germoplasma PE y de Alto aceite; y resultados preliminares sobre análisis de ADN, en bandas atribuibles a las poblaciones poliembriónicas de maíz.

Palabras clave: *Zea mays* L., poblaciones, selección recurrente, genética, poliembriónía

Introducción

El descubrimiento de semillas de maíz capaces de generar dos o más plantas de alto parecido fenotípico llevó a varios investigadores a señalar posibles ventajas del fenómeno, sea con fines de investigación, o su aplicación para diseñar nuevas variedades (Pesev *et al.*, 1976; Rodríguez y Castro, 1978; Castro, 1979; Gómez, 1980). La condición prolífica de las semillas, la probable calidad nutritiva del grano, y las expectativas de estudio con gemelos genéticamente idénticos representaron las ventajas más señaladas en ese tiempo.

Los trabajos iniciales en este tema por investigadores del IMM de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro cumplieron una serie de objetivos orientados principalmente a la constitución de una población enana de alta frecuencia gemelar; un acopio de estos resultados aparece en Rodríguez (1981). El punto medular en esto fue la concepción de que la condición gemelar era de naturaleza cuantitativa, con una heredabilidad de 65 a 77% (Castro, 1979; Gómez, 1983). El deterioro por endogamia de la población Gemelas fue corregido con la introgresión de germoplasma élite, proveniente de las mejores líneas de alta endogamia del IMM, adecuadas para regiones del Bajío, trópico seco y húmedo de México (Gómez, 1980). Se aplicaron dos ciclos de recombinación, y posteriormente se reinició la selección hacia alta frecuencia gemelar. A principios de los años noventa, se desprendió de la población original una segunda población de gemelas, pero de altura normal; el manejo de las dos poblaciones continuó bajo el esquema de selección recurrente.

La frecuencia gemelar detectada inicialmente en la población de origen fue de 2%; la respuesta a la selección fue notable durante los primeros ciclos, lográndose un nivel de 20% al tercero (Castro, 1979) y de 46% al sexto (Gómez, 1980; Rodríguez, 1981). Contrario a lo que se pudiera esperar, este nivel se mantuvo por varios años, y fue superado hasta 1995, cuando se logró obtener una frecuencia de 51% (Espinoza *et al.*, 1998). Desde el principio de estos trabajos (1977) y hasta 1997, una práctica común en el manejo de las poblaciones gemelas fue la de calificar esta condición en las familias del ciclo anterior, sembradas en cajas de germinación, bajo invernadero; las familias que superaran la media general aportaban especímenes para transplantarse de manera inmediata; de este modo, la nueva población se constituía sólo con plantas dobles o triples seleccionadas de esta manera.

El manejo de las poblaciones sufrió algunas modificaciones a partir de 1997; se cambió la práctica de selección relajada por una que aplica 20% de presión de selección; se dejó el trasplante por el de siembra directa con las semillas pertenecientes a las familias seleccionadas en invernadero; y se derivó una población control por cada una de las ya existentes; en esto, se selecciona en contra de la condición gemelar o poliembriónía (selección reversa).

En esta etapa, el estudio de la poliembriónía (PE) en estos maíces ha sido orientado a encontrar respuestas en cuanto a potencial productivo y calidad nutrimental del grano, de tal manera que puedan generarse grupos varietales de importancia económica y practicable. Para ello, se han desarrollado trabajos de investigación en los siguientes rubros: cuantificación química de los ácidos grasos oleico y linoleico, y los aminoácidos lisina y triptofano en grano; estudios citogenéticas en cuanto a poliploidía; estudios de desarrollo radicular; selección recurrente y reversa de las cuatro poblaciones de interés; Selección de líneas S1 poliembriónicas; combinación de diversos niveles de germoplasma PE y de alto aceite; y estudios moleculares de muestras de ADN ligado a la poliembriónía.

En este trabajo se analizan y confrontan de manera comprensiva los resultados experimentales propios sobre maíces PE, incluyendo los de 2006, buscando dilucidar el mecanismo más probable de control genético del fenómeno, y su aplicación en el diseño de variedades especializadas de maíz.

Materiales y Métodos

Para esta retrospectiva, se utilizarán los resultados obtenidos en los últimos diez años, incluido 2006, así como los datos históricos generados por los investigadores del IMM en tiempos previos a esta etapa; varios de los datos actuales provienen de los trabajos de tesis, concluidas y en proceso, desprendidas de este proyecto.

La selección recurrente y reversa a que se someten las poblaciones de interés poliembriónico, se aplican siguiendo valores de la media poblacional \pm una desviación estándar; en el caso de las variables: frecuencias de GE (germinación) y PE, es hacia más; y para la proporción de plántulas anormales (DEF), es hacia menos. Regularmente se evalúan de 220 a 300 familias de medios hermanos por población, seleccionando 20% de las mejor calificadas; y se establecen en campo para servir como los progenitores de la siguiente generación. La calificación bajo invernadero se hace con una muestra aleatoria de 30 a 50 semillas por familia; como progenitores, las familias que son seleccionadas se representan por una muestra de 60 a 100 semillas por caso.

Los estudios para lograr explicaciones alternas a los mecanismos de herencia de la poliembriónía incluyen particularmente el análisis de cruzamiento de las poblaciones de Alta-PE con otras poblaciones No-PE, sus filiales y retrocruzas hacia los dos progenitores originales. Además, las observaciones resultantes de un esquema de selección de líneas endogámicas S₁ (González *et al.*, y Musito *et al.*, datos por publicar).

La calidad nutrimental del grano de las poblaciones PE y sus testigos, se ha estudiado a través de los procedimientos Kjeldhal (proteína cruda) y de precolación en el porta muestras del equipo Soxhlet (grasa cruda). A detalle, se han aplicado análisis químicos para la cuantificación de los ácidos grasos oleico y linoleico, y los aminoácidos lisina y triptofano, los dos tipos de análisis siguiendo los métodos adecuados en cada caso para cromatografía de gases (Valdez, 2005).

La inspección citológica para detectar casos de poliploidía en maíces PE se ha desarrollado siguiendo procedimientos aplicables a tejido de punta de radícula, tinción con carmín-propiónico 45%, técnica de aplastado, y análisis de cariotipos (Sánchez, 2000; Gallegos, datos por publicar).

Los estudios moleculares incluyendo análisis de ADN de las poblaciones poliembriónicas, se aplicaron con el objetivo de rastrear la posibilidad de que la PE en maíz estuviera asociada a la apomixis; esta hipótesis se probó mediante las técnicas apropiadas para AFLP, polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados (Villarreal, 2007).

Resultados y Discusión

Mecanismos genéticos involucrados en la PE

Las cruzas entre maíces PE del IMM con otros maíces No-PE, generan siempre híbridos F₁ cien por ciento de aspecto No-PE, indicando que la poliembriónía se comporta como un carácter completamente recesivo; el modelo más simple para explicar esto sería un gen mayor, donde el dominante sería el tipo normal de maíz.

Aditividad

Sin embargo, y a pesar de la conducta recesiva de la poliembriónía, este modelo de un gen, dominancia completa, no permite explicar la respuesta observada en la población original bajo selección para proporciones crecientes de PE (Castro, 1979; Rodríguez, 1981; Gómez, 1983; Espinoza *et al.*, 1998; Espinoza y Vega, 2000); en este sentido, los siete ciclos de selección practicados de 1977 a 1983, permitieron pasar de 2% a 47% en la frecuencia de PE, una ganancia notable.

Los datos conocidos permiten reubicar el fenómeno de los maíces poliembriónicos a partir de 1993; de entonces a 2006, la frecuencia PE en estos maíces pasó de 43% a 65% (Espinoza *et al.*, 1998; Espinoza y Vega, 2000; Espinoza, datos por publicar). El periodo incluye ocho ciclos de selección recurrente, y por lo tanto una ganancia promedio baja. De estos resultados se puede concluir que las poblaciones PE han alcanzado un nivel que pudiera ser el máximo permitido con respecto al carácter. De hecho, al generar líneas S₁ dentro de las dos poblaciones de alta PE, la media de las progenies S₁ presenta frecuencias muy similares a su población madre, es decir, invariante.

Desde otro ángulo, nuevos cruzamientos de las poblaciones poliembriónicas (PPE) con la población Tuxpeño Alto aceite (TAA), proporcionada por CIMMYT, y un híbrido comercial de alta productividad (COM-1) han permitido corroborar el comportamiento recesivo de la PE en F₁.

Epistasis

Los datos obtenidos de progenies F₂ y RC1 de los cruzamientos directos y recíprocos entre PPE y TAA respaldan la hipótesis de que la herencia de la PE se ajusta a un modelo genético de al menos dos loci independientes que presentan interacción epistática. Los dos pares de genes exhiben para sí dominancia completa, pero cualquiera de ellos, cuando dominante, es epistático sobre el otro; de este modo, las combinaciones del dihíbrido en F₂, sólo pueden exhibir la PE cuando ambos loci están en homocigosis recesiva (proporción 15:1) es decir, sólo el 6.25% serán fenotípicamente PE. Ahora bien, cuando se sigue el esquema mendeliano de Retrocruzas hacia el progenitor recesivo, se espera que un dihíbrido en RC1 presente el 25 % de dobles recesivos. Los datos 2006 se presentan en el cuadro siguiente.

Cuadro 1. Cuatro grupos de maíz segregantes para PE, derivados de la cruce original PPE x TAA

Grupo	Familias	Semillas	GE (%) \pm DE	PE (%) \pm DE	DEF (%) \pm DE
F2 directa	110	3300	98.0 \pm 5	5.4 \pm 4	7.6 \pm 5
F2 recíproca	130	3900	100 \pm 3	5.9 \pm 4	7.9 \pm 7
RC1 directa	110	3300	97.0 \pm 5	25.9 \pm 13	12.9 \pm 7
RC1 recíproca	110	3300	98.2 \pm 3	22.0 \pm 13	6.8 \pm 5

La información del Cuadro 1 es un apoyo válido para la hipótesis de herencia epistática para la transmisión de la poliembriónia; actualmente se avanza en el desarrollo de la F 2 de otros cruzamientos de naturaleza similar, los cuales pudieran aportar más información sobre esta propuesta.

La presencia de casos notables de semillas individuales que pueden emitir tres, cuatro y hasta cinco plantas productivas cuando se les siembra de manera directa en el campo, es una variante que pudiera representar expresividad variable del carácter PE; Espinoza *et al.* (1998) y Espinoza y Vega (2000) presentan algunos datos sobre el particular; en ellos, la proporción de la PE de casos de tres o más plantas por semilla se ubica entre 16 y 20%; los datos de 2006 resultaron en valores de 5 (población alta) a 1% (enana).

Calidad nutrimental del grano

Este aspecto es central en el manejo de las poblaciones PE del IMM; la hipótesis aquí es que las poblaciones poliembriónicas poseen más calidad y cantidad nutrimental del grano que el maíz normal, dado la incidencia de más de un embrión por semilla. Los resultados experimentales sobre este tema son relevantes; Espinoza *et al.* (1999) informan de valores destacados en cuanto a niveles de proteína y grasa cruda en maíces PE.

Datos más recientes, los presenta Valdez (2005) señalando que no sólo los contenidos de grasa cruda en maíces PE son altos, sino que la proporción de ácidos graso oleico y linoleico son mayores que los de maíz común utilizados como testigos, y que su relación oleico/linoleico es cercano a 1 y superior al de la población testigo de alto aceite. También destacable el hecho de que los contenidos de lisina y triptofano en la población enana PE iguala a su testigo, maíz QPM (alta lisina). Actualmente se trabaja en la determinación química de contenidos de aceites en diversas combinaciones de germoplasma Enana PE y Tuxpeño Alto aceite, con la expectativa que la confluencia de las bases genéticas de los dos grupos, permitan establecer material germoplásmico de fundación para iniciar programas de selección para variedades de alto contenido de aceite y otros nutrientes (González *et al.*, por publicar).

Estudios en busca de poliploidía en maíces PE

Las características atípicas de la PE en maíz permiten suponer que otros fenómenos de índole genético pudieran estar de algún modo asociados al primero; poliembriónia y poliploidía son fenómenos simultáneos en algunas especies de gramíneas. Un caso conocido en maíz es la presencia del gen (ig), que en homocigosis genera aproximadamente 6% de poliembriónia y 3% de monoploidía (Hallauer y Miranda, 1988).

El interés en este tema se sitúa en el contexto de la asociación: poliembrionía-poliploidía-apomixis, explorando la posibilidad de detectar vías no sexuales en la reproducción de los maíces PE.

Los resultados propios sobre poliploidía permiten señalar la presencia de células triplodes y tetraploides en tejido apical de radícula, tanto en la población enana como en la de altura normal (Espinoza *et al.*, 2000; Gallegos *et al.*, datos por publicar). Sin embargo, hasta ahora los casos detectados son aislados y no permiten aislar plántulas completas. Estudios complementarios aplicando otras técnicas, como la citometría de flujo, pudieran dar mejor información sobre este tema.

Aplicación de técnicas de análisis de ADN en maíces PE

Un trabajo asociado con investigadores de la facultad de Química de la Universidad Autónoma de Coahuila, llevó a probar la posibilidad de que fenómenos de Xenia y apomixis estuvieran asociados a la PE de los maíces PE del IMM.

El trabajo asociado se abordó a través de especímenes de plantas y sus progenies, incluyendo cruzamientos diversos; la inspección clave se realizó utilizando marcadores moleculares AFLP's aplicables a ADN de plantas progenitoras y progenies (Villarreal, 2007).

Los resultados no aportan evidencias de ninguno de los fenómenos abordados, pero el estudio permitió afinar técnicas de extracción de ADN de maíces PE, y se corroboró lo que fenotípicamente se ha advertido: con frecuencia, plantas provenientes de la misma semilla son genéticamente diferentes entre si. Esta condición implica que en algunos casos, los embriones en una misma semilla pueden provenir de diferentes procesos; probablemente como los tipos que identificó Erdelska (1996) en maíces que exhiben poliembrionía.

Conclusiones

La poliembrionía de los maíces IMM-UAAAN es un fenómeno complejo, todavía no completamente descrito en sus bases naturales. Se está en una buena posición de contar con una base germoplásmica de alta frecuencia poliembrionica, única y poco frecuente en los medios de investigación de maíz. Los mecanismos de herencia que controlan la PE transitan de un probable modelo de dos loci independientes y espistáticos, hasta un grupo de genes mayor, con efectos de Aditividad.

Entre las cualidades agronómicas que los maíces PE exhiben destacan la Prolificidad de las semillas, la capacidad competitiva de las plantas hermanas, provenientes de una sola semilla, ya que pueden desarrollarse y fructificar a partir de un mismo sitio del recurso suelo.

Incuestionable la calidad nutrimental de las semillas y muy probablemente del resto de la planta, es de nivel superior pues está documentado que las semillas PE poseen características que se asemejan a las que tienen las variedades calificadas como de alta calidad nutrimental, denominadas: QPM y HOC (high oil corn), maíces especializados.

La línea de trabajo actual relativa a la integración de grupos que combinan niveles de germoplasma de maíces PE con otras fuentes de contenidos especializados o de alta capacidad

productiva, representa, de hecho, un nuevo proceso de enriquecimiento de la fuente original de los genes de las poblaciones, con otros genes, diferentes a los de la poliembriónía de los maíces PE del IMM-UAAAN.

Literatura Citada

- Castro G, M. 1979. Estudio sobre herencia y valor nutritivo de semillas con doble embrión. In: Avances de Investigación 1978, Programa Maíz, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 106 pp, p 24-25.
- Erdelska, O. 1996. Polyembryony in maize – Histological analysis. Act. Soct. Botanicorum Poloniae. 65(1-2): 123-125.
- Espinoza, J, Vega, M C, Navarro, E, Burciaga, G A. 1998. Poliembriónía en maíces de porte normal y enano. Agron. Mesoam. 9(2): 83-88.
- Espinoza V, J, Vega S, M C, Jasso C, D. 1999. Contenidos de grasa y proteína cruda en semillas de maíces poliembriónicos. In: Espinoza V, J, Bosque C, J del (eds), Memorias del 2º Taller Nacional de Especialidades de Maíz. 9-10, septiembre, 1999, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 159-165.
- Espinoza V, J, Sánchez L, J, Ramírez G, F. 2000. Triploides encontrados en plántulas de maíces poliembriónicos. In: Zavala G, F, Ortega, R, Mejía, J A, Benítez, I, Guillén, H (eds), Memorias del XVIII Congreso Nacional de Fitogenética: Notas Científicas. SOMEFI, Chapingo, México. 15-20 octubre, 2000. Irapuato, Guanajuato, México. p 274.
- Espinoza V, J, Vega S, M C. 2000. Maíces de alta frecuencia poliembriónica. In: Zavala G, F, Ortega, R, Mejía, J A, Benítez, I, Guillén, H (eds), Memorias del XVIII Congreso Nacional de Fitogenética: Notas Científicas. SOMEFI, Chapingo, México. 15-20 octubre, 2000. Irapuato, Guanajuato, México. p 4.
- Gómez G, J R. 1980. Selección para alta frecuencia de semillas de maíz con doble embrión. In: Avances de Investigación 1978, Instituto Mexicano del Maíz, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 115 pp, p 112.
- Gómez R, J. 1983. Estudio sobre herencia y valor nutritivo de semilla de maíz con doble embrión. In: Avances de Investigación 1978, Instituto Mexicano del Maíz, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 94 pp, p 77.
- Hallauer, A R, Miranda Fo, J B. 1988. Quantitative Genetics in Maize Breeding, Second edition. Iowa State Press/ Ames, Ia. USA. 468 pp, p 14.
- Rodríguez H, S A, Castro G, M. 1978. Estudio sobre herencia de semillas con dos embriones. In: Avances de Investigación 1978, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 83 pp, p 19.
- Rodríguez H, S A. 1981. Determinación de la heredabilidad y efecto de la selección para el carácter doble embrión en maíz. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 48 pp.
- Sánchez L, J. 2000. Estudio citogenético en dos poblaciones de maíz (*Zea mays* L.) poliembriónico. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 44 pp.
- Valdez L, P L. 2005. Ganancia en calidad nutrimental del grano como respuesta asociada ala selección para poliembriónía en maíz. Tesis de Maestría en Ciencias en Fitomejoramiento. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 92 pp.
- Villarreal C, A G. 2007. Relación de xenia y apomixis con la poliembriónía en maíz. Tesis de Licenciatura, QFB especialidad Bromatología, Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Coahuila, México. 70 pp.