

RENDIMIENTO DE SEMILLA DE CRUZAS SIMPLES FÉRTILES Y ANDROESTÉRILES PROGENITORAS DE HÍBRIDOS DE MAÍZ*

SEED YIELD OF MALE STERILE AND NORMAL FERTILES PROGENITORS OF MAIZE HYBRIDS

Margarita Tadeo-Robledo^{1§}, Alejandro Espinosa Calderón², David Beck³ y José Luis Torres³

¹Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. Apartado Postal 25. Km. 2.5 carretera Cuautitlán-Teoloyucan. 54700 Cuautitlán, Estado de México, México. ²Campo Experimental Valle de México, INIFAP. ³CIMMYT, El Batán, Texcoco, Estado de México. [§]Autora para correspondencia: tadeorobledo@yahoo.com

RESUMEN

El uso de la androesterilidad es una opción viable para reducir costos de producción de semilla de híbridos de maíz. Investigadores del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) y la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), se dieron a la tarea de introducir el gen de androesterilidad a progenitores de híbridos de maíz e identificaron algunas líneas con capacidad restauradora de la fertilidad en 1992. Como objetivo de este estudio, se evaluaron seis cruzas simples androestériles y sus respectivas versiones fértiles en el ciclo primavera-verano de 2000. Se estableció un experimento en El Batán, Estado de México, México y Tula, Hidalgo, con un diseño experimental de bloques completos al azar con tres repeticiones. La característica de esterilidad se verificó usualmente durante el período de floración. No se observó diferencia en rendimiento de semilla entre las cruzas androestériles y su versión fértil. Las cruzas androestériles produjeron mayor porcentaje de semillas grandes y en la mayoría de los casos mayor peso de 100 semillas. Se confirmó la androesterilidad de las cruzas.

Palabras clave: *Zea mays* L., días a floración, desespigüe, producción de semilla.

ABSTRACT

To reduce production costs maize seed multiplication, the use of male sterility is a viable option. Researchers at the National Research Institute for Forestry, Agriculture and Livestock (INIFAP) and the National Autonomous University of Mexico (UNAM), introduced a male sterile gene since 1992 have been pursuing the introduction of this into maize lines and in the search for fertility restoring lines. The objective of this study was to evaluate seed production and quality of male sterile single crosses and to compare them with their fertile version. The experiment was established at El Batán, State of Mexico, Mexico and Tula, Hidalgo, in a complete randomized block design with three replicates. During the flowering period the sterility trait was visually verified. No difference in seed production was observed between male sterile and normal versions of the crosses. Male sterility increased the percentage of large seeds and in the majority of the crosses the 100 seed weight. The male sterility trait was confirmed on all simple crosses.

Key words: *Zea mays* L., detasseling, days to flowering, seed production.

* Recibido: Enero de 2006
Aceptado: Junio de 2007

La producción de semilla de híbridos de maíz requiere desespigamiento oportuno y adecuado, así como mayor fuerza de trabajo (24 a 50 jornales por hectárea), para obtener semilla de alta calidad y con identidad genética. La práctica del desespigue conlleva alto costo de producción, por lo que el empleo de la androesterilidad puede ser una opción viable. En EE. UU. la androesterilidad dejó de utilizarse por las empresas productoras de semillas a partir de 1970, debido a que la única fuente de esterilidad citoplasmática denominada cms-T (incorporada a la mayoría de los híbridos para facilitar la producción de semilla) mostró susceptibilidad al tizón foliar causado por el hongo *Helminthosporium maydis* raza T, de tal manera que ocasionó una epifitía que afectó 90% de las siembras en la faja maicera de ese país (Airy *et al.*, 1978; Grogan, 1971; Tadeo *et al.*, 1997).

En México se reportó un trabajo relacionado con la restauración de la fertilidad en maíces mexicanos portadores de la fuente T de esterilidad citoplasmática (Pérez, 1964). Sin embargo, hasta fines de la década de 1970 e inicio de 1980 se retomó esta investigación, con base en el descubrimiento y desarrollo de esterilidad masculina relacionada con la herencia citoplasmática y nuclear (cms) y de nuevas fuentes de esterilidad masculina (principalmente para los tipos C y S). Actualmente estos tipos se utilizan en cerca del 25% de la superficie dedicada a la producción de semilla en EE.UU. (Liu *et al.*, 2002; Beck y Torres, 2005). En todos los casos se cuenta con diversas fuentes dentro de cada tipo de esterilidad para no depender de una sola. (Partas, 1997; Liu *et al.*, 2002; Torres y Rodríguez, 2002; Tadeo *et al.*, 1997; Thomson, 1979; Tadeo *et al.*, 1999; Tadeo *et al.*, 2003).

En la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la Universidad Nacional Autónoma de México (FESC-UNAM) y el Campo Experimental Valle de México, del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), se han realizado trabajos de mejoramiento genético para incorporar la esterilidad masculina a las líneas hembras de los híbridos comerciales desarrollados por la UNAM e INIFAP, con énfasis en la fuente "C". La fuente C de esterilidad masculina de interacción hereditaria de citoplasma y nuclear (Pérez, 1964; Brauer, 1987; Simeonov e Ilchovac, 1995; Partas, 1996 y 1997 y Weingartner *et al.*, 2002) presentó 100% de esterilidad y estabilidad del carácter desde el nivel del mar hasta 2600 m de altitud, lo cual se ha verificado en trabajos desarrollados en los Campos Experimentales del INIFAP en: Cotaxtla, Veracruz; Río Bravo, Tamaulipas; Valle de Apatzingán, Michoacán; Iguala, Guerrero y Valle de México, Estado

de México, México (Fleming *et al.*, 1960; Beck y Torres, 2005).

Los trabajos para incorporar el carácter de esterilidad a las líneas básicas se iniciaron en 1992 en la UNAM, posteriormente (1995-1997) se identificaron líneas con capacidad restauradora. A la fecha no se ha definido si estas líneas restauradoras poseen los genes Rf_1 o Rf_2 , aún cuando el más difundido ha sido el Rf_2 . En algunos estudios se ha observado que la combinación del citoplasma C resulta solo en esterilidad masculina (Beck y Torres, 2005). La estabilidad de la fuente de androesterilidad y la capacidad restauradora de las líneas desarrolladas, permitieron vislumbrar el uso potencial del esquema de androesterilidad, con lo cual se podrían limitar, en cierta medida, algunos problemas relacionados con el desespigue, así como reducir los costos que implica esta actividad. Adicionalmente, el uso de líneas androestériles puede facilitar el control de la calidad e identidad genética de los híbridos (Tadeo *et al.*, 2001).

Después de contar con las líneas en su versión androestéril, la siguiente etapa fue obtener semilla de las cruzas simples también androestériles, para lo cual, la línea con este carácter se combinó con la respectiva línea fértil. A la vez la misma cruz simple se obtuvo al combinar la línea hembra versión fértil con la línea macho; como resultado, se obtuvieron cruzas simples en la versión androestéril y la versión androfértil. Es importante destacar que las cruzas simples en su versión fértil, participan también como progenitores hembras en los híbridos H-48, H-50 y H-153 (Tadeo *et al.*, 2001). El objetivo de este estudio fue evaluar y comparar el rendimiento y calidad de la semilla de maíz de cruzas simples androestériles con su respectiva versión fértil y confirmar la estabilidad de la androesterilidad.

Ubicación geográfica del área de trabajo

Los experimentos se establecieron en el El Batán, Estado de México, México, en terrenos del Centro Internacional para el Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) a 2240 msnm y en Tula, Hidalgo, en el campo de la Productora Nacional de Semillas (PRONASE) a 1980 msnm.

Materiales utilizados

Durante el ciclo otoño-invierno 1999-2000, en Tlaltizapan, Morelos, México, se incrementó la semilla de las cruzas simples androestériles disponibles en el CIMMYT: CML244RC₃, CML241RC₂, CML242RC₂ y CML242RC₄,

las cuales se combinaron con las líneas CML349, CML239 y CML246, con lo cual se obtuvieron seis cruzas simples, mismas que se presentan en ambas versiones en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Cruzas simples de maíz en versión androestéril y fértil evaluadas en El Batán, Estado de México y Tula, Hidalgo. Ciclo primavera-verano 2000.

Núm.	Cruza simple	Versión
1	CML244 (RC_3) X CML349	Androestéril
2	CML244 X CML349	Fértil
3	CML241 (RC_2) X CML239	Androestéril
4	CML241 X CML239	Fértil
5	CML242 (RC_2) X CML239	Androestéril
6	CML242 X CML239	Fértil
7	CML242 (RC_4) X CML239	Androestéril
8	CML242 X CML239	Fértil
9	CML242 (RC_4) X CML349	Androestéril
10	CML242 X CML349	Fértil
11	CML242 (RC_4) X CML246	Androestéril
12	CML242 X CML246	Fértil

RC_2 , RC_3 y RC_4 = Niveles de retrocruza 2, 3 y 4, respectivamente.

Diseño experimental y análisis estadístico

Las seis cruzas simples androestériles se compararon con sus respectivas cruzas simples fértiles (Cuadro 1), en un experimento establecido en el ciclo primavera-verano de 2000 en dos localidades. Los factores considerados fueron genotipos androestéril-fértil. Los seis tratamientos resultantes se evaluaron con un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. Se llevaron a cabo análisis de varianza de los experimentos factoriales individuales y el análisis combinado de las dos localidades.

Se utilizaron parcelas útiles de dos surcos de cinco metros de largo y 0.90 m entre surcos, con una densidad de población

de 60 000 plantas ha^{-1} y una dosis de fertilización de 160-70-30 (N-P-K). En cada uno de los experimentos se tomó un kilogramo de semilla por parcela, que se pasó por un homogeneizador tipo Boerner. En una muestra de 300 g se evaluó la calidad y productividad de la semilla, a través de: porcentaje de semilla grande, mediana y chica, para lo cual se utilizaron zarandas de 7 y 5 mm, (semilla grande superior a 7 mm, mediana entre 7 mm y 5 mm y chica inferior a 5 mm); peso de 100 semillas y rendimiento de semilla. Se evaluó el porcentaje de esterilidad o fertilidad de cada una de las cruzas simples mediante conteos de plantas fértiles y androestériles en cada parcela durante el período de floración.

Comparación de cruzas androestériles y fértiles

Los resultados del análisis de varianza factorial mostraron una media general de rendimiento de semilla de 4838 kg ha^{-1} , con un coeficiente de variación de 17.7%. Se detectaron diferencias altamente significativas solo para el factor de variación localidad, no así para los otros factores estudiados: genotipos fértiles y androestériles. No se detectaron diferencias significativas para las interacciones: genotipos x androestéril-fértil, genotipos x localidades, genotipos x androestéril-fértil x localidades (Cuadro 2).

Para la variable días a floración masculina, el coeficiente de variación fue de 1.4% y la media general de 77 días, se observaron diferencias altamente significativas para genotipos, androestéril-fértil, localidades, así como para la interacción androestéril x fértil x localidades, y diferencias significativas para genotipos x androestéril-fértil, genotipos x localidades y genotipos x androestéril-fértil x localidades (Cuadro 2). En las parcelas con los tratamientos de cruzas simples androestériles, el conteo de espigas confirmó la esterilidad masculina, la cual fue de 100%, lo que confirma la estabilidad de la fuente utilizada en la conversión de las líneas; con lo que es posible eliminar el costo de desespigüe en la producción de semilla de híbridos, con ahorro de 24 a 50 jornales por ha, es decir, por lo menos \$2500 ha^{-1} (Beck y Torres, 2005).

En la localidad de Tula, Hidalgo, se obtuvo una media de producción de semilla de 5680 kg ha^{-1} , diferente estadísticamente a la media obtenida en El Batán, México, que fue de 3997 kg ha^{-1} . La diferencia en productividad entre las dos localidades pudo deberse a que en Tula, Hidalgo, se riega con aguas negras, lo que ha mejorado la fertilidad del suelo al grado de que esta región se destaca por su alto potencial productivo en maíz (Espinosa y Carballo, 1987).

Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza factorial para rendimiento de semilla en evaluación de cruzas simples androestériles y fértiles de maíz en dos localidades. Primavera-verano 2000.

Fuente de variación	G. L.	Rendimiento C. M.	Floración masculina C. M.
Genotipos	5	1359007	20.2**
Androestéril-fétil	1	209686	22.0**
Localidades	1	50939218**	533.5**
Genotipos x androestéril-fétil	5	228237	2.58*
Genotipos x localidades	5	1273828	2.85*
Androestéril-fétil x localidades	1	559519	20.05**
Genotipos x androestéril-fétil x localidades	5	830833	2.24*
Error	46	733719	1.22
Total	71		
C.V. (%)		17.7	1.4
Media		4838 kg ha ⁻¹	77 días

La producción media de los genotipos androestériles en las dos localidades fue de 4784 kg ha⁻¹ y de los genotipos fértiles de 4892 kg ha⁻¹, los que resultaron estadísticamente iguales. Lo anterior no fue lo que se esperaba, ya que la androesterilidad no influyó en el rendimiento, resultado que no coincidió con lo observado en otros trabajos (Stamp *et al.*, 2000; Weingartner *et al.*, 2002); probablemente, factores ambientales propiciaron que no se expresara la diferencia. Cabe aclarar que en los experimentos no se presentaron problemas de polinización ya que estuvieron rodeados de materiales fértiles.

La crusa simple CML242 X CML349 en su versión fétil produjo 5625 kg ha⁻¹ es 5131 de la versión androestéril y fue el genotipo que numéricamente produjo el más alto rendimiento de semilla. La menor producción correspondió a CML242 X CML239, en versión fétil, con 4419 kg ha⁻¹. A su vez, la crusa simple androestéril CML242(RC₄) X CML239 rindió 4888 kg ha⁻¹, que representa 105.1% en comparación con la versión fétil CML242 X CML239 que produjo 4650 kg ha⁻¹ (Cuadro 3).

En todos los casos los genotipos androestériles presentaron valores numéricos de porcentaje de semilla grande superiores a la correspondiente versión fétil. Lo mismo se observó en la mayoría de los casos para el peso de 100 semillas. Estas variables tienen relación con la calidad de la semilla, por lo que sería interesante confirmar los resultados y dilucidar si se deben a la incorporación de

Cuadro 3. Medias de rendimiento y porcentajes de semilla de cruzas simples de maíz androestériles y fértiles evaluadas en dos localidades de la región Valles Altos de México. Primavera-verano 2000.

Genealogía	Versión	Rendimiento medio (kg ha ⁻¹)	Porcentaje AE vs F
CML244(RC ₃) X CML349	AE	5008	98.5
CML244 X CML349	F	5081	100.0
CML241(RC ₂) X CML239	AE	4611	100.8
CML241 X CML239	F	4573	100.0
CML242(RC ₂) X CML239	AE	4440	100.5
CML242 X CML239	F	4419	100.0
CML242(RC ₄) X CML239	AE	4888	105.1
CML242 X CML239	F	4650	100.0
CML242(RC ₄) X CML349	AE	5131	91.2
CML242 X CML349	F	5625	100.0
CML242(RC ₄) X CML246	AE	4629	92.5
CML242 X CML246	F	5005	100.0
D.S.H. (0.05)		1039	

AE=Androestéril; F=Fétil.

esterilidad como lo señala Weingartner *et al.*, (2002), para aprovechar este beneficio en caso de que así sea. En los días para alcanzar la floración masculina y femenina los valores fueron similares o un día más tardía para la versión androestéril con respecto a las versiones fértiles (Cuadro 4), lo anterior pudo deberse a que si bien las cruzas simples se integraron con las líneas androestériles con niveles de dos y hasta cuatro retrocruzas hacia la línea original, aún no es posible considerarlas como isogénicas, lo que puede atribuirse a la fuente de esterilidad usada.

Cuadro 4. Valores medios de floración masculina y femenina, porcentaje de semilla grande y peso de 200 semillas de cruzas simples de maíz androestériles y fértiles evaluadas en dos localidades de la región Valles Altos de México. Primavera-verano 2000.

Genealogía	Versión	Floración masculina (días) ^a	Floración femenina (días)	Semilla grande (%)	P 200 (g)
CML244(RC ₃)					
X CML349	AE	76	76	62.4	46.5
CML244 X					
CML349	F	75	76	55.6	45.8
CML241(RC ₂)					
X CML239	AE	78	79	27.0	37.1
CML241 X					
CML239	F	78	78	21.8	36.9
CML242(RC ₂)					
X CML239	AE	78	79	21.9	36.4
CML242 X					
CML239	F	77	78	15.7	36.0
CML242(RC ₄)					
X CML239	AE	78	79	37.3	39.9
CML242 X					
CML239	F	77	78	13.7	34.6
CML242(RC ₄)					
X CML349	AE	75	75	38.3	45.1
CML242 X					
CML349	F	74	75	25.2	39.7
CML242(RC ₄)					
X CML246	AE	79	80	24.5	34.5
CML242XCM					
L246	F	77	80	9.5	40.9
D.S.H. (0.05)		4	5	23.8	10.3

AE= Androestéril; F= Fértil; PS200= Peso de 200 semillas.

Se confirmó la esterilidad masculina total, producto de la conversión de la línea hembra de cada cruce simple.

El rendimiento de semilla de cruzas simples evaluadas fue igual en ambas versiones, androestéril y fértil.

Los genotipos androestériles presentaron mayor porcentaje de semilla grande en comparación con la versión fértil

correspondiente y en la mayoría de los casos el peso de 200 semillas fue superior en la versión androestéril.

LITERATURA CITADA

- Airy, J., M.; Tatum, L. A. and Sorenson J. W. 1978. La Producción de semillas, producción de semilla híbrida de maíz y sorgo para grano. In: Anuario estadístico de semillas. Trad. de la 4^a ed. en inglés por Antonio Marino y Pánfilo Rodríguez. Ed. CECSA. México. p. 274-285.
- Beck L., D. y Torres F., J. L. 2005. Desespigamiento. p. 44-55. In: Ortiz T., C., Espinosa C., A., Azpiroz R., H. S., Sahagún C., S. (Comp.). 2005. Producción y tecnología de semillas de maíz del INIFAP para los Valles Altos y zona de transición. INIFAP-CIRCE. Campo Experimental Valle de Toluca. Zinacantepec, Estado de México, México. p. 44-55 (Libro Técnico Núm. 3).
- Brauer H., O. 1987. Fitogenética aplicada. Limusa. México. p. 273-278
- Espinosa C., A. y Carballo C., A. 1987. H-135 nuevo maíz híbrido de riego para la zona de transición el Bajío-Valles Altos. CAEVAMEX. Chapingo, Estado de México, México. p. 1-16. (Folleto Técnico No. 1).
- Fleming A., A., Koselnicky G., M. and Browne E. B. 1960. Cytoplasmic effect on agronomic characters in a double cross maize hybrid. Agron. J. 52:112-115.
- Grogan C., O., Francis C., A. and Sarvella, P. A. 1971. Influence of cytoplasmic male sterility on dry matter accumulation in maize. Crop Sci. 5:365-367.
- Liu Z., P.; Long S. O.; Weingartner, M.; Stamp, U. and Kaeser, O. P. 2002. A PCR assay for rapid discrimination of sterile cytoplasm types in maize. Crop Sci. 42:566-569.
- Partas E., K. 1996. Prospec for using new source of cytoplasmic male sterility in the hybrid seed production of maize. In: KuKuruza-i-Sorgo. 3:3-5.
- Partas E., K. 1997. Male sterility as an efficient method of exploiting heterosis in maize. p. 244-245. In: The genetics an exploitation of heterosis in crops. An International Symposium. CIMMYT, Mexico city, Mexico.
- Pérez A., R. 1964. Restauración de la fertilidad por maices mexicanos en la fuente T de esterilidad citoplasmática masculina. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados Chapingo. Texcoco, Estado de México, México. 31 p.

- Simeonov N. and Ilchovaka. 1995. Efect of male-sterility cytoplasm and mode of restoration on the seed production and yield of the single and modified maize hybrid knezha 530. *In: Rasteniev* dni-Nauki. 32:9-10 , 86-89.
- Stamp, P.; Chowchong, S.; Menzi M.; Weingartner, U. and Kaefer, O. 2000. Increase in the yield of cytoplasmic male sterile maize revisited. *Crop Sci.* 40:1586-1587.
- Tadeo R., M.; Espinosa C., A.; Martínez M., R.; Solano A., M. and Piña D., V. A. 1997. Use of CIMMYT germplasm to develop maize hybrids at the UNAM. p. 240-241. *In: The genetics and exploitation of heterosis in crops. An International Symposium.* CIMMYT, Mexico city, Mexico.
- Tadeo R., M.; Espinosa C., A.; Solano A., M. y Martínez M., R. 1999. Androesterilidad en líneas e híbridos de maíz de Valles Altos de México. En: Resúmenes de la XLV reunión anual del PCCMCA. 12-15 de abril, 1999. Guatemala, Guatemala.
- Tadeo R., M.; Espinosa C., A.; Solano A., M. y Martínez M., R. 2001. Esterilidad masculina para producir semilla híbrida de maíz. *Ciencia y Desarrollo.* 157:64-75.
- Tadeo R., M.; Espinosa C., A.; Solano A., M. y Martínez M., R. 2003. Androesterilidad en líneas e híbridos de maíz de Valles Altos de México. *Agron. Mesoam.* 14(1):15-19.
- Torres, C. y Rodríguez, E. 2002. Incorporación de la androesterilidad citoplásica a línea cubana de maíz (*Zea mays L.*). *En: Resúmenes de XLVIII reunión anual PCCMCA 2002.* Boca Chica, República Dominicana. p. 49.
- Thomson J., R. 1979. Introducción a la tecnología de las semillas. Trad. de la primera ed. en inglés por Paloma Melgarejo de Nárdiz. Ed. Acribia. España. p. 68.
- Weingartner, U.; Prest T., J.; Camp, K. H. and Stamp, P. 2002. The plus-hybrid system: a method to increase grain yield by combined cytoplasmic male sterility and xenia. *Maydica* 47:127-134.