

CARACTERIZACIÓN DE GERMOPLASMA DE MAÍZ QUE COMBINA UN ALTO CONTENIDO DE ACEITE Y POLIEMBRIONÍA

Characterisation of maize germoplasm that combines a high oil content and polyembryony

VM González-Vázquez, J Espinoza-Velázquez ✉, R Mendoza-Villarreal, H De León-Castillo, MA Torres-Tapia

(VMGV) Graduado del doctorado en fitomejoramiento UAAAN

(JEV)(HDeLC) Instituto Mexicano del Maíz-UAAAN

(RMV) Departamento de Ciencias Básicas-UAAAN

(MATT) Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) Calzada Antonio Narro 1923.Buenavista, Coahuila, México. C.P. 25315. jespvel@uaaan.mx

Artículo recibido: 08 de diciembre de 2009, **aceptado:** 22 de junio de 2011

RESUMEN. El incremento de la calidad nutrimental del grano de maíz (*Zea mays* L.) puede lograrse al combinar fuentes de germoplasma que se complementen en cuanto a su alto contenido de aceite y calidad proteica. En este trabajo se utilizó una población de alta poliembrionía (PE) como fuente de calidad proteica y otra población de alto contenido de aceite (AA) para generar combinaciones de germoplasma PE:AA en dosis de 0:100, 12.5:87.5, 25:75, 37.5:62.5, 50:50, 62.5:37.5, 75:25, 87.5:12.5 y 100:0 % con el objeto de encontrar la complementación referida. Las variables de respuesta fueron: germinación (GE) y poliembrionía (PE) en plántulas en invernadero, y contenidos de grasa cruda (GC), proteína cruda (PC) y lisina (Lis) en harina de grano completo. El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con tres repeticiones. La comparación de medias fue con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$). Los resultados indican diferencias para todas las variables evaluadas ($p \leq 0.01$). Las proporciones óptimas (PE:AA) para calidad nutrimental en grano fueron las combinaciones de 50:50 (Lis = 2.7 % y GC = 6.9 %), valores superiores al de maíz normal. El carácter PE confiere a la población poliembriónica el valor más alto para lisina (4 %), mientras que el AA presentó el valor más alto en grasa cruda (8.3 %). Las dosis de germoplasma evaluadas en este trabajo presentan potencial para generar variedades especializadas de maíz con calidad nutrimental del grano.

Palabras clave: *Zea mays* L., poliembrionía, maíz de alto aceite, grasa cruda, lisina.

ABSTRACT. An increase in the nutritional quality of maize (*Zea mays* L.) may be achieved by combining germoplasm sources that complement each other with respect to a high oil content and to protein quality. In this study, a high polyembryony population (PE) was used as a source of protein quality together with a high oil content population (AA) to generate PE:AA germoplasm combinations at doses of 0:100, 12.5:87.5, 25:75, 37.5:62.5, 50:50, 62.5:37.5, 75:25, 87.5:12.5 and 100:0 %, in order to find the cited complementation. The response variables were: germination (GE) and polyembryony (PE) in greenhouse plants, and the content of crude fat (CF), crude protein (CP) and lysine (Lys) in whole grain flour. A completely randomised experimental design was applied with three repetitions. The means were compared with a Tukey test ($\alpha = 0.05$). The results presented differences for all the studied variables ($p \leq 0.01$). The optimal proportions (PE:AA) for grain nutritional quality were the 50:50 combinations (Lys = 2.7 % and CF = 6.9 %) that were higher than that of normal maize. The PE trait provides the polyembryonic population the highest lysine value (4 %), while the AA presented the highest value of crude fat (8.3 %). The germoplasm doses evaluated in this study are suitable to generate specialised maize varieties with a good nutritional quality.

Key words: *Zea mays* L., polyembryony, high oil maize, crude fat, lysine.

INTRODUCCIÓN

Al uso ancestral del maíz (*Zea mays* L.) como alimento para la humanidad, se agrega en la actualidad su aplicación como materia prima en procesos industriales. Estas aplicaciones requieren de maíces especializados, de acuerdo al uso que se pretenda, situación que genera un área de oportunidad para que los fitomejoradores creen variedades apropiadas para cubrir esta demanda.

La producción comercial de maíz es, básicamente, de tres tipos: 1) dentado de amplia utilización en la alimentación y procesos de industrialización; 2) dulces para el consumo humano y elaboración de jarabes; y 3) los denominados como maíces de valor agregado (value enhanced corn), que son variedades de uso especializado como: el maíz palomero, el maíz baby, el maíz de color azul, las variedades de alto contenido de aceite y los híbridos de alta calidad proteica con mayor valor nutritivo para la alimentación humana. La aplicación de todos estos tipos es variada, sea en el diseño de dietas balanceadas para animales o de amplio uso industrial y de calidad nutrimental para humanos (Anónimo, 1998; Clark *et al.* 2006; Lamkey & Lee, 2006).

El maíz de alto contenido de aceite (conocidos como maíces HOC, high oil corn) es una de las variantes industrializables de maíz, sea para aceites comestibles o dietas pecuarias. La tecnología existente para variedades de alto aceite es reducida a los híbridos denominados "Top cross" o mestizo utilizados principalmente en Estados Unidos de América (Thomison *et al.* 2003). En México, esta característica no se ha aprovechado debido a que no se cuenta con variedades comerciales de alto aceite (Coutiño *et al.* 2008).

El grano de los híbridos de maíz generados en los últimos años contienen alrededor de 4 % de aceite, 9 % proteína, 73 % almidón y 14 % de otros constituyentes, principalmente fibra (Lambert 1994; Lambert *et al.* 2004). Sin embargo, estas características pueden ser modificadas mediante metodologías de fitomejoramiento incorporando la capacidad para producir grano con proporciones superiores en aceite, proteína y almidón, sin descuidar alto rendimiento (Clark *et al.* 2006).

En el nivel nutrimental del maíz hay dos cuestiones de importancia: el contenido de ácidos grasos y la calidad proteica en el grano. El aceite se localiza en el germen (33 %), la proporción de grasa cruda (de 3 a 22 %) depende en su mayoría del tamaño del embrión, el cual está a su vez determinado genéticamente (Anónimo 1993; Dudley, 2007); el control genético de este fenómeno puede involucrar un número grande de QTL's de efecto pequeño, algunos investigadores los calculan en al menos 40 loci (Clark *et al.* 2006; Dudley *et al.* 2007).

Dado la pobre calidad de las proteínas de este cereal, principalmente en los aminoácidos lisina y triptófano (Huang *et al.* 2004; Azebedo *et al.* 2006) el desarrollo de variedades de maíz con alta calidad proteica (QPM por sus siglas en inglés quality protein maize) obedece a la necesidad de producir maíz con una mejor calidad nutrimental, comparable con fuentes de proteína animal (Lamkey & Lee 2006; Gutiérrez *et al.* 2008).

La poliembrionía (PE) es otro fenómeno de interés en maíz por su posibilidad de producir dos o más plantas, causada por la presencia de dos o más embriones por semilla. Esta condición también puede presentar ventajas agronómicas, tales como: reducción en la cantidad de semilla usada en la siembra, mayor producción de materia seca por hectárea sembrada e incremento de la calidad nutrimental del grano (Pesév *et al.* 1976; Rodríguez & Castro 1978; Castro 1979; Gómez, 1983; Espinoza *et al.* 1998).

La característica PE la presentan algunas especies de angiospermas y gimnospermas (Martínez & Gradziel, 2003) y ha sido documentada desde hace mucho tiempo en maíz (Sharman 1942; Morgan & Rappleye, 1951; Pesév *et al.* 1976; Erdelska, 1996). Las propuestas en cuanto a los mecanismos de herencia que controlan el fenómeno de poliembrionía en maíz son la de un gen mayor simple recesivo (Hallauer & Miranda 1988; Pilu 2000), a naturaleza cuantitativa (Pesév *et al.* 1976; Rodríguez & Castro 1978; Castro 1979). En el primero se debe principalmente al gen denominado "indeterminate gametophyte" (*ig*); y en el segundo a que lo determina una heredabilidad estimada de 65 %.

Investigaciones preliminares sobre el fitomejoramiento y utilización de la PE en maíz han derivado

Tabla 1. Genotipos generados en base a proporciones de germoplasma partiendo de la F₁ directa (DxE = F) y recíproca (ExD = G).

Table 1. Genotypes generated based on germoplasm proportions starting from the direct F₁ (DxE = F) and the reciprocal (ExD = G).

Proporción	Nivel de combinación	Genotipos Derivados a partir de la crusa inicial		Total
		F	G	
100.0	Población	IMM-UAAAN-BAP (D)*	D	1
87.5	RC2	DFxD, DxDF, DxFD, FDxD	DGxD, DxDG, GDxD, DxGD	8
75.0	RC1	DF, FD	DG, GD	4
62.5	RC2	EFxD, DxEF, FExD, DxFE	EGxD, DxEG, GExD, DxGE	8
50.0	Filiales	F1 de F, F2 de F, F3 de F	F1 de G, F2 de G, F3 de G	6
37.5	RC2	DFxE, ExDF, FDxE, ExFD	DGxE, ExDG, GDxE, ExGD	8
25.0	RC1	EF, FE	EG, GE	4
12.5	RC2	EFxE, ExFE, FExE, ExEF	EGxE, ExEG, GExE, ExGE	8
0.0	Población	Tuxpeño-HOC-CIMMYT(E)*	E	1

Total= 2 *Poblaciones parentales (D = población poliembriónica PE, E = población de alto aceite AA) utilizadas en la crusa inicial, mas 46 genotipos agrupados en siete proporciones germoplásmicas.

en la formación de dos poblaciones de alta frecuencia de este carácter, las que además se caracterizan por contenidos superiores de aceite y lisina que el maíz normal (Espinoza *et al.* 1998; Valdez *et al.* 2004; Valdez, 2005).

Este trabajo fue orientado a la utilización de las fuentes germoplásmicas de alto aceite y poliembrionía, con el objetivo de generar genotipos que combinen proporciones variables de estos materiales de modo tal que constituyan una base genética para la derivación de variedades de alta calidad nutricional del grano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material genético

Dos poblaciones poliembriónicas desarrolladas por el Instituto Mexicano del Maíz "Dr. Mario E. Castro Gil" de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (IMM-UAAAN), una de altura normal, denominada IMM-UAAAN-NAP (en lo sucesivo C); la otra de porte enano IMM-UAAAN-BAP (en lo sucesivo D), ambas mejoradas por selección recurrente de 1973 a 1991 y por cruza fraternales con mezcla de polen de 1991 a la fecha. Actualmente, la frecuencia de PE en estas poblaciones es de 60 % (Espinoza *et al.* 1998; Espinoza *et al.* 2000; Musito *et al.* 2008). La población Tuxpeño-HOC (Origen: "TL.01B, 6250-04, HIGH OIL. C13") proveniente del

Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) seleccionada para alto contenido de aceite (en lo sucesivo E).

Constitución de dosis de germoplasma

El estudio involucra el cruzamiento directo y recíproco entre D y E, (DxE = F y ExD = G); la F₂ y F₃ de cada crusa y las retrocruzas RC₁ y RC₂ (retrocruzas uno y dos) con ambos progenitores en forma directa y recíproca, que permitió generar proporciones que combinan PE y alto aceite (AA) con diferencias de 12.5 % entre cada proporción (Tabla 1). La población C y sus cruza directa y recíproca con E fueron utilizadas como referentes poliembriónicos; y como testigo el Híbrido comercial AN-447.

Trabajo en campo

Las polinizaciones fueron realizadas durante tres ciclos agrícolas, en el primero se obtuvieron las F₁, en el segundo, las F₂ y RC₁ y en el tercero, las F₃ y RC₂. Para evitar algún sesgo al realizar los análisis químicos por la vejez de la semilla de algunas generaciones, en el tercer ciclo se procedió a sembrar los progenitores (poblaciones D y E), las filiales (F₁ y F₂) y las retrocruzas (RC₁ y RC₂) con semilla de reserva, de tal forma que se produjo semilla nueva de todos los genotipos, todos los niveles bajo estudio (Tabla 1).

La generación de los genotipos se realizó en

Tabla 2. Cuadrados medios de las nueve proporciones de germoplasma PE:AA y cuatro testigos, para las variables germinación (GE), poliembriónia (PE), grasa cruda (GC), proteína cruda (PC) y lisina (Lis).

Table 2. Mean squares of the nine PE:HO germoplasm proportions and four controls, for the variables germination (GE), polyembryony (PE), crude fat (CF), crude protein (CP) and lysine (Lys).

F. de V.	g. l.	GE	PE	GC	PC	Lis+
Proporciones	12	0.134 **	1225.200 **	0.107 **	0.052 **	0.028 **
Error	26	0.003	6.100	0.001	0.005	0.004
Media		96.183	13.900	6.692	10.374	2.760
C. V.		0.579	17.300	1.248	2.204	3.510

+La evaluación con esta variable sólo incluyó dos repeticiones, por lo que los grados de libertad para proporciones son 12 y 13 para el error. ** Diferencias estadísticas ($p \leq 0.001$).

tres ciclos agrícolas, el ciclo 1, se llevó a cabo en el Campo Experimental de la UAAAN "Dr. Mario E. Castro Gil" en Tepalcingo, Morelos (18°26' LN; 98°18' LO; altitud 1100 msnm); y los ciclo dos y tres, en el lote de polinizaciones del IMM-UAAAN, en Buenavista, Saltillo, Coahuila (25°21' LN; 101°02' LO; altitud 1756 msnm).

Evaluación en Invernadero

La calificación a nivel de plántula fue realizada a los 14 días después de la siembra (dds), consistió en la siembra de 30 semillas por familia de medio hermanos por genotipo, sembradas en charolas germinadoras de 200 cavidades, el sustrato utilizado fue una mezcla de suelo y peat-moos en proporción 6:4; en ellas se evaluaron el porcentaje de germinación (GE) y de poliembriónia (PE).

Determinaciones químicas

El estudio incluyó análisis para grasa cruda (GC), proteína cruda (PC) y contenido de lisina (Lis) en harina obtenida de granos enteros de maíz de todos los genotipos evaluados. La metodología utilizada para GC fue el de percolación en el porta muestra del equipo Soxhlet, utilizando 3 g de harina de maíz (Bernardini 1981). La PC fue determinada mediante el método Kjeldhal, No. 979.09 de la AOAC (1990); y para lisina, se aplicó el método de Tsai et al. (1975) modificado por Villegas et al. (1984).

Las muestras para los análisis anteriores se obtuvieron de compuestos balanceados de 300 semillas, obtenidas al azar en cada población, cruza,

retrocruza o generación filial; de aquí se formaron tres repeticiones de 100 semillas cada una. Las semillas se molieron en un molino Thomas-Willey, modelo 4 con malla de 2 mm. En la determinación de lisina se utilizó un espectrofotómetro Biomate 3 de "Thermo Electron Corporation". La determinación de GC fue realizada en el laboratorio de Fitoquímica, el de PC en el de Nutrición Animal, y la lisina en el de Producción y Almacenamiento de Semillas, de la UAAAN.

Diseño y Análisis Estadístico

Los tratamientos para las variables medidas en invernadero, así como las determinadas en los análisis químicos, fueron analizados mediante un diseño completamente al azar con tres repeticiones, exceptuando la lisina (Lis) en la que solo se consideró dos repeticiones. Los datos fueron probados estadísticamente con el ANDEVA correspondiente. La comparación de medias fue con Tukey $\alpha = 0.05$ para establecer diferencias estadísticas entre genotipos. Para los análisis y prueba de medias se usó el paquete estadístico SAS Versión 9.0 (Anónimo 2002). También se aplicó el análisis de regresión lineal simple para determinar la dependencia de las variables GC y PE con las diferentes proporciones de germoplasma. Para probar el modo de herencia que controla la PE, se aplicó una prueba de χ^2 .

RESULTADOS

Con la serie de cruza y retrocruzas se logró la formación de nueve proporciones de germoplasma, las cuales incluyen siete genotipos que combi-

Tabla 3. Comparación de medias para proporciones de germoplasmas y testigos, para las variables germinación (GE), poliembrionía (PE), grasa cruda (GC), proteína cruda (PC) y lisina (Lis). Calificación de invernadero realizada en diciembre de 2008.

Table 3. Mean test comparisons for germoplasm proportions and controls, for the variables germination (GE), polyembryony (PE), crude fat (CF), crude protein (CP) and lysine (Lys). Data taken under greenhouse conditions in December 2008.

Proporción	GE	PE	GC	PC	Lis
0	98.0 ^{ab}	0.0 ^d	8.3 ^a	10.3 ^{bc}	2.2 ^c
12.5	97.5 ^{ab}	0.0 ^d	7.8 ^{ab}	11.0 ^{abc}	2.5 ^{bc}
25	97.8 ^{ab}	0.0 ^d	7.6 ^{bc}	10.6 ^{abc}	2.5 ^{bc}
37.5	97.9 ^{ab}	0.0 ^d	7.4 ^{bc}	10.8 ^{abc}	2.5 ^{bc}
50	99.0 ^a	1.8 ^{cd}	7.1 ^c	10 ^c	2.8 ^{bc}
62.5	97.8 ^{ab}	7.9 ^{cd}	6.5 ^d	10.3 ^{bc}	2.7 ^{bc}
75	96.9 ^{ab}	12.0 ^c	6.3 ^d	9.7 ^{cd}	2.7 ^{bc}
87.5	95.9 ^{abc}	35.2 ^b	6.3 ^d	10.6 ^{abc}	2.8 ^{bc}
100	93.0 ^c	65.5 ^a	5.6 ^e	8.5 ^{cd}	4.0 ^a
C	95.0 ^{bc}	59.3 ^a	5.6 ^e	9.7 ^{cd}	3.2 ^{ba}
H	98.7 ^a	0.0 ^d	6.3 ^d	9.9 ^{cd}	2.9 ^{bc}
I	99.0 ^a	0.0 ^d	7.4 ^{bc}	11.8 ^a	2.6 ^{bc}
AN-447	84.0 ^d	0.0 ^d	4.9 ^e	11.6 ^{ab}	2.6 ^{bc}

Tukey ($\alpha = 0.05$), valores con letras iguales son estadísticamente iguales. C = IMM-UAAAN-NAP, H = CxE, I = ExC.

nan dosis variables de las fuentes PE y AA, y las correspondientes a las dos poblaciones (Tabla 1). El efecto de estas diversas dosis produjeron variación significativa (ANDEVA, $p \leq 0.01$) en todas las variables (Tabla 2). La prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) identificó grupos estadísticos para cada una de las variables (Tabla 3).

El análisis de regresión lineal, que denota la relación entre la frecuencia de PE en función de proporción de germoplasma, fue significativo ($p \leq 0.05$); la proporción de la varianza explicada por el modelo (R^2) fue 87.2 %; esto indica que existe una relación entre dosis de germoplasmas y la expresión de la PE (Figura 1).

Los resultados de la prueba χ^2 para frecuencias de PE mostraron diferencias ($p \leq 0.01$) en F_2 y RC_1 (Tabla 4 y 5), respectivamente, por lo tanto se rechaza la hipótesis de que la PE esté controlada por sólo un gen, un par de alelos homocigotos recesivos.

Las variables GC, PC y Lis presentaron valores altos en las diversas combinaciones entre D:E; el promedio varió de 5.6 a 8.3 %, de 8.5 a 11 % y de 2.2 a 4 g lisina en 100 g de proteína, respectiva-

mente (Tabla 3). Las poblaciones base D y E, fueron superiores en GC al híbrido testigo (en porcentajes de 12 y 70 %, respectivamente).

El análisis de regresión lineal para GC con respecto a dosis de germoplasma fue significativo ($p < 0.01$), R^2 de 97 % (Figura 2). En la prueba de medias para contenido de grasa cruda resalta el hecho de que las F_1 , directas y recíprocas (F_1 de F y F_1 de G), fueron estadísticamente diferentes (Figura 3.), lo cual pudiera indicar efectos recíprocos dada la dirección de la cruce. La cruce recíproca (G) fue 18 % superior en contenido de GC a la cruce directa (F). Al comparar las filiales F_2 (de F y G) y F_3 (promedio de F_3 de F y F_3 de G), se observó que el promedio en GC de la F_3 es muy cercano al promedio de las poblaciones y filiales, mientras que la F_2 tiende a estabilizarse hacia un valor intermedio entre los progenitores.

Además, el contenido de GC en la RC_1 , hacia ambos progenitores, mostró un efecto de dirección de cruce donde las RC_1 hacia el progenitor E fueron estadísticamente superiores. En las Figuras 3 y 4 se observa el comportamiento clásico de caracteres métricos, que tienen un comportamiento gradual y

Tabla 4. Prueba de χ^2 para la segregación de poliembrionía en la F_2 de la cruce entre D y E.
Table 4. χ^2 test for polyembryony segregation in F_2 of the D by E cross.

Clases	Proporción esperada %	Observados (o)	Esperados (e)	(o - e)	(o - e) ²	$\frac{(o-e)^2}{e}$
NoPE	75	4201	3261	940	883600	270.96
PE	25	147	1087	-940	883600	812.88
$\chi^2 =$						1083.84

Tabla 5. Prueba de χ^2 para frecuencia de poliembrionía observadas en la cruce de prueba con el progenitor D.
Table 5. χ^2 test for the polyembryony frequency observed in the test cross with the D parent.

Clases	Proporción esperada %	Observados (o)	Esperados (e)	(o - e)	(o - e) ²	$\frac{(o-e)^2}{e}$
NoPE	50	1383	923	460	211600	229.25
PE	50	463	923	-460	211600	229.25
$\chi^2 =$						458.50

acumulativo. Esta tendencia también se observa en la regresión lineal para incremento de GC con respecto a las dosis de germoplasma, la cual resultó significativa ($p < 0.01$), R^2 de 0.97 (Figura 5) donde el contenido de aceite en el grano se incrementa al aumentar la dosis de germoplasma de alto contenido de aceite.

El contenido de PC en las proporciones de germoplasma no mostró una relación con respecto a dosis. Dichos contenidos se ubicaron en la banda de 8.5 a 11 %. La prueba de medias clasificó estadísticamente superior al testigo "I", seguido del testigo comercial, y la fracción de proporciones que comprenden las dosis 12.5, 25, y 37.5 %.

El valor promedio general de lisina fue de 2.76 g por cada 100 g de proteína (Tabla 2); la comparación de medias permitió separar los genotipos con respecto a esta variable (Tabla 3); la media más alta corresponde al progenitor poliembriónico D (dosis 100 % PE) con valores de 4 g lisina/100 g de proteína, que es 40 % superior al testigo de maíz normal y 64 % superior a E; es relevante señalar que no se detectaron diferencias estadísticas entre las diferentes proporciones intermedias (50:50) de PE:AA para esta variable. Sin embargo, éstas son estadísticamente superiores al progenitor AA (alto aceite).

DISCUSIÓN

La estrategia abordada en este trabajo al cru-

zar y generar dosis variables a partir de dos fuentes de germoplasma con cualidades utilizables en la mejora de la calidad nutricional del maíz resultó adecuada, ya que se pudo constituir un número significativo (48) de grupos genéticos (vía filiales, tres generaciones; retrocruzas, dos generaciones), los cuales fueron ordenados en nueve grupos con diferente proporción de los germoplasmas PE:AA, mismos que fueron considerados como tratamientos para todas las variables de interés. El primer nivel de cruzamiento (F_1) mostró en lo general valores intermedios en las cinco variables, lo cual pudiera indicar una base genética de tipo cuantitativo, factible de mejorar. Como se observa, un contenido de 4 % en Lis es la característica principal en la población PE (D); y el de 8.33 % de aceites para la población AA (E); los cuales son indiscutiblemente valores superiores a los reportados para el maíz normal que contiene de 2 a 3 % de lisina en 100 g de proteína y 4 % de grasa cruda (Lambert 1994; Lambert *et al.* 2004; Mendoza *et al.* 2006). Los promedios generales para los genotipos de dosis intermedia (50 % PE : 50 % AA) resultaron promisorios ya que se ubican a la mitad de los límites de las poblaciones originales.

El análisis estadístico de los datos indicó diferencias entre tratamientos para todas las variables (Tabla 2). Esta variación es de relevancia ya que permite diferenciar genotipos en términos de utilidad hacia la integración de bases genéticas para la derivación de variedades de alta calidad nutricional

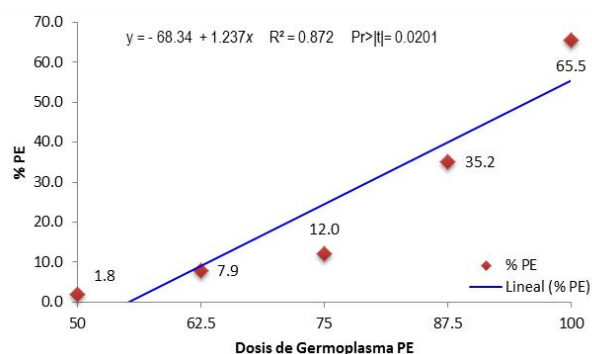


Figura 1. Expresión de la poliembrionía (PE) en relación al incremento de germoplasma Poliembriónico (D) en las proporciones de germoplasma PE:AA.

Figure 1. Polyembryony (PE) expression in relation to the increase in polyembryonic germplasm (D) in the PE:HO germoplasm proportions.

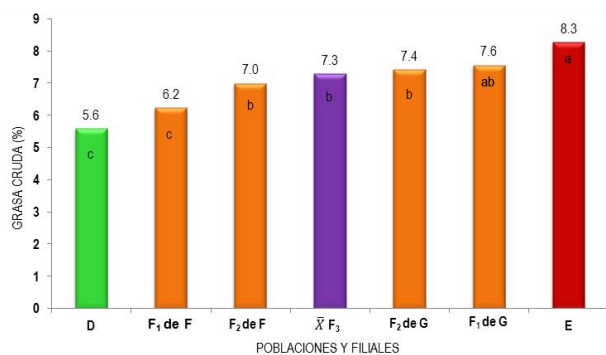


Figura 3. Respuesta del contenido de grasa cruda (GC) en filiales, comparadas con las poblaciones paternas (D, E) en grano completo de maíz.

Figure 3. Crude fat (CF) content response in filials, compared with the parental populations (D, E) in whole maize grain.

del grano.

En relación a la variable GE, ésta fue mejorada de manera significativa en la combinación de las dos fuentes de germoplasma (PE: AA) con valores de GE que van de 96 a 99%. La proporción 50:50 fue la que presentó mayor germinación, mientras que la de menor porcentaje fue la población PE (Tabla 3). Sin embargo, todos los grupos presentaron una germinación 12% superior a la establecida como el estándar de germinación exigido en semillas

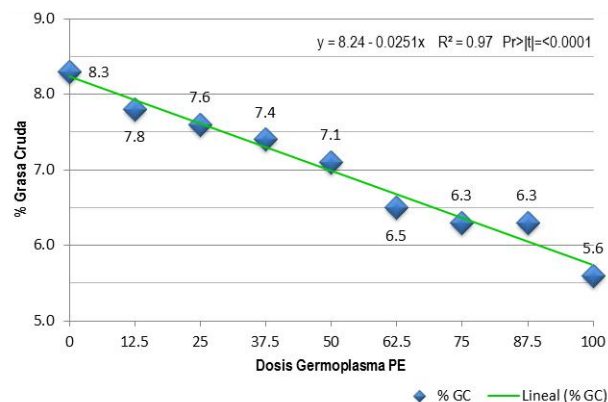


Figura 2. Relación del contenido de grasa cruda (GC) con el incremento de dosis de germoplasma poliembriónico (PE).

Figure 2. Crude fat (CF) content in relation to the increase in dose of polyembryonic germoplasm (PE).

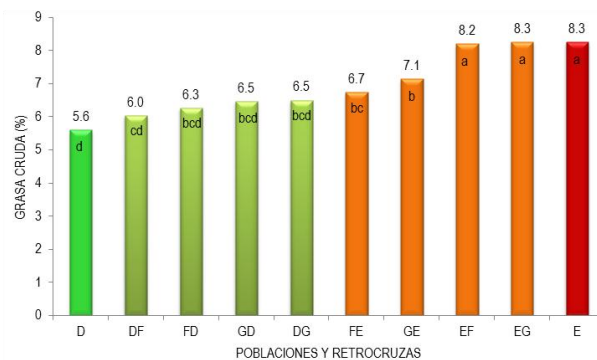


Figura 4. Contenido de GC en retrocruzas directas y recíprocas en comparación con las poblaciones paternas (D, E) en grano entero de maíz (Tukey $\alpha = 0.05$).

Figure 4. CF content in direct and reciprocal test crosses, compared with the parental populations (D, E) in whole maize grain (Tukey $\alpha = 0.05$).

comerciales para siembra.

La combinación de fuentes de germoplasma PE:AA en sus diferentes dosis presentó un efecto de enmascaramiento de la característica PE, el cual no se expresó en la F₁ (proporción de germoplasma D = 50%), situación que se repite cada vez que uno de los progenitores en cruzamiento es No-PE y el otro posee cierto grado de PE; como es de esperarse, tampoco puede exhibirse poliembrionía en los genotipos utilizados como materiales de referencia H e I

(Tabla 2). Sin embargo, el carácter PE se manifestó en grado creciente en combinaciones donde la proporción de germoplasma PE también fue creciente. Cabe aclarar que los promedios generales de dosis para la proporción de 50:50 % exhiben un valor bajo de poliembriónia (Tabla 3), condición esperada, ya que esta combinación de dosis está representada por el promedio que incluye, además de las F_1 (donde no se expresa la PE), a las filiales F_2 y F_3 , (F_2 de F , F_3 de F , F_2 de G y F_3 de G) las cuales presentan casos de PE por efecto de segregación (Figura 1). En cuanto a la población D (100 % germoplasma del tipo PE), los valores de PE son consistentes con los reportados (Espinoza *et al.* 1998; González *et al.* 2006; 2008). En los casos donde se cuenta con proporciones mayores del germoplasma poliembriónico (62.5, 75, y 87.5 %) se observa la capacidad de transmitir el carácter en frecuencias crecientes, en concordancia con lo postulado de alta heredabilidad del carácter reportada por Castro (1979).

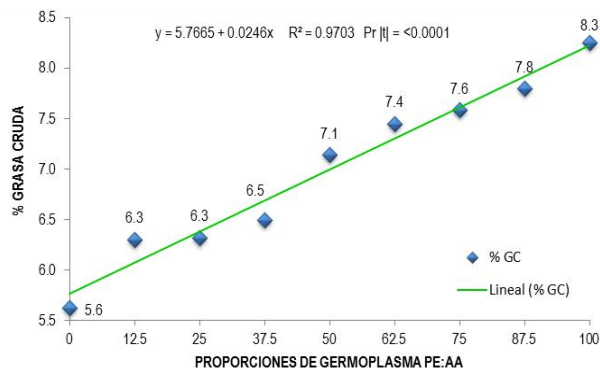


Figura 5. Contenido promedio de grasa cruda en grano entero de maíz, en diferentes proporciones de germoplasma PE:AA (poliembriónico : alto aceite). Dosis 0 = población D, germoplasma 100 % PE; dosis 100 = población E, germoplasma 100 % de AA.

Figure 5. Average crude fat content in whole maize grain in different PE:HO germoplasm proportions (polyembryonic: high oil). Dose 0 = D population, 100 % PE germoplasm; dose 100 = E population, 100 % HO germoplasm.

El análisis de regresión aportó evidencias de que la PE presente en D se relaciona con las dosis de germoplasma superiores a 50 % (Figura 1). El hecho del enmascaramiento de la PE en la craza F_1 con la fuente No-PE (Tabla 3) y su recuperación en F_2

y F_3 y en las retrocruzas hacia D implica necesariamente establecer que la poliembriónia observada en este trabajo es de naturaleza recesiva. Para tratar de explicar los posibles mecanismos genéticos que controlan la PE, se plantea la hipótesis de herencia monogénica y de tipo recesivo. Para probar la hipótesis mencionada se utilizaron las frecuencias de PE observadas en F_2 y RC_1 , del ciclo 2, utilizando una prueba de χ^2 de bondad de ajuste (Tablas 4 y 5). El análisis aportó evidencias estadísticas para rechazar la hipótesis (3:1 en F_2 y de 1:1 en RC_1) ya que la frecuencia de PE en la F_2 fue de sólo 3.4 % y en la craza de prueba RC_1 de 25.1 %. Valores por demás bajos con respecto a la frecuencia esperada en el caso de que la PE sea controlada por un gen mendeliano con segregación independiente. Como propuesta, estas proporciones pudieran ser explicadas en el caso de interacción génica de dos loci, con epistasis doble dominante, de penetrancia incompleta, lo que explicaría el hecho de que sólo se tenga una segregación del 3.4 % de PE en lugar del 6.25 %; proporción 15:1 (Klung & Cummings 2000).

En cuanto al contenido de grasa cruda en grano (Tabla 3) se pudo demostrar la superioridad de la población D en relación a los híbridos actuales de maíz (Lambert 1994; Lambert *et al.* 2004); también se observó que la población E de alto aceite es 70 % superior al testigo de maíz normal; y puede, en combinación con D, generar proporciones de germoplasma con valores de GC que superan al progenitor PE y se acercan a los valores promedio de maíces especializados de alto aceite (Thomson *et al.* 2003).

El análisis de regresión para GC con respecto a dosis (Figura 2) mostró relación lineal negativa. Esto se explica dado que la presentación de los resultados tiene al germoplasma E (alto aceite) como el punto de partida; a medida que se va sustituyendo con germoplasma D (poliembriónico, alta Lis. pero moderado contenido de aceite) los valores de grasa cruda se van reduciendo. Esta relación brinda la posibilidad de diseñar nuevos trabajos de investigación dirigidos a producir maíces de alto aceite. De acuerdo a estos resultados, las proporciones de germoplasma PE:AA en dosis 37.5 y 50 % parecen ser los óptimos a utilizarse para conformar la base

genética con la posibilidad de generar grupos genotípicos con 6 a 7 % de aceites y , recuperar la PE, que significan lograr un nivel de Lis 30 a 50 % superior al maíz normal. Recombinar materiales de estas categorías pudieran redituarse en variedades de alto aceite y alta lisina comparables e incluso superiores a los maíces e híbridos modernos (Lambert 1994; Lambert *et al.* 2004).

El contenido de aceite observado en los genotipos generados indican un efecto de dirección de cruce, al menos a nivel de F_1 y RC_1 (Figura 3 y 4); así mismo, se observa una respuesta gradual relacionada a la proporción de germoplasmas PE:AA (Tabla 3, Figura 5); dicho comportamiento es comparable a los casos históricos de herencia poligénica descrita por Edward M. East en 1936, (citado por Klung & Cummings 2000). En este contexto, es probable que la genética que gobierna la concentración de aceite en el grano de estas poblaciones y genotipos agrupados en las dosis utilizadas, sea de herencia poligénica, situación que coincide con el reporte de Clark *et al.* (2006).

La concentración de PC determinada en este trabajo no se relacionó en ningún sentido con las proporciones de germoplasma. Sin embargo, esto puede deberse a la naturaleza de la variable, la cual es afectada por el ambiente (Vázquez *et al.* 2005). Por otra parte, el contenido de lisina no mostró diferencias estadísticas entre dosis intermedias pero si fueron 20 % superiores al progenitor E (alto contenido de aceite). El contenido de lisina en la población D resultó ser el más alto en todo el experimento,

con valor semejante al del maíz QPM (Vázquez *et al.* 2005; Mendoza *et al.* 2006; Vidal *et al.* 2008).

De acuerdo a la información presentada, los resultados sugieren que trabajar con proporciones de germoplasma, a través de filiales y retrocruzas, es una alternativa para incorporar características deseables a las poblaciones PE, recuperar esta condición en nuevos grupos genotípicos, con probabilidades de éxito, independientemente del tipo de herencia que gobierne al carácter de PE. También, se pudo apreciar que la combinación de los germoplasmas PE:AA mejora, de manera significativa la capacidad de germinación y la calidad de grano. Las características de las diferentes proporciones proveen germoplasma que puede ser utilizado en la constitución de una base genética para la derivación de variedades de alta calidad nutricional del grano, ya sean PE o No-PE.

AGRADECIMIENTOS

El primer autor agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), a la Dirección de Postgrado y a la Dirección de Investigación de la UAAAN, por el apoyo económico brindado durante mis estudios de postgrado para realizar la presente investigación. Al personal de los laboratorios de Fitoquímica, Nutrición Animal, Horticultura, y Producción y Almacenamiento de Semillas de la UAAAN, por el apoyo brindado en las determinaciones químicas requeridas en este trabajo.

LITERATURA CITADA

- Anónimo (1993) Food and Agriculture Organization. Maize in Human Nutrition. <http://www.fao.org/docrep/T0395E/T0395E00.htm>. Consulta: 01 de Junio del 2011.
- Anónimo (1998) La influencia del maíz alto en aceite en los alimentos para aves. Feed Grain. Revista para fabricantes de alimentos balanceados, operaciones integradas y procesadores de grano. pp. 4-7.
- Anónimo (2002) SAS Version 9.0. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- AOAC (1990) Official Methods of Analysis of the AOAC. Association of Official Analytical Chemists 15th edition. Washington, DC;. 1298 p.
- Azevedo RA, Lancien M, Lea PJ (2006) The aspartic acid metabolic pathway, an exciting and essential pathway in plants. Amino Acids 30: 143-162.
- Bernardini E (1981) Tecnología de Aceites y Grasas. Ed. Alhambra. España pp 72-94.

- Castro GME (1979) Estudio sobre herencias y valores nutritivos de semillas con doble embrión, Avances de investigación en maíz. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista. Coah. Mex. pp. 24-25.
- Clark D, Dudley JW, Rocheford TR, LeDeaux JR (2006) Genetic analysis of corn kernel chemical composition in the random mated 10 generation of the cross generations 70 of IHO x ILO. *Crop Sci.* 46: 807-819.
- Coutiño EB, Ortega AC, Vidal MVA, Sánchez GG, García ASI (2008) Selección recurrente para incrementar el contenido de aceite en maíz comiteco. *Rev. Fitotec. Mex.* 31 (3): 5-8.
- Dudley JW (2007) From means to QTL: The Illinois long-term selection experiment as a case study in quantitative genetics. *Crop Sci.* 47(S3) S20-S31. doi: 10.2135/cropsci2007.04.0003IPBS.
- Dudley JW, Clark D, Rocheford TR and LeDeaux JR (2007) Genetic analysis of corn grain chemical composition in the random mated 7 generation of the cross of generations 70 of IHP x ILP. *Crop Sci.* 47: 45-57.
- Erdelska O (1996) Cleavage polyembryony *in vivo* and *in vitro*. *Acta Botanicorum Poloniae* TOM 65 (1-2) CTOP. 001123-00125.
- Espinoza J, Vega MC, Navarro E, Burciaga GA (1998) Poliembriónía en maíces de porte normal y enano. *Agronomía Mesoamericana.* 9(2): 83-88.
- Espinoza VJ, Vega S Ma C (2000) Maíces de alta frecuencia poliembriónica. En: Zavala GF, Ortega PR, Mejía CJA, Benítez RI y Guillén AH. (eds.). *Memorias del XVIII Congreso Nacional de Fitogenética: Notas Científicas.* SOMEFI. Chapingo, México. pp. 4.
- Gómez JR (1983) Estudio sobre herencia y valor nutritivo de semilla de maíz con doble embrión. Avances de investigación en maíz. Instituto Mexicano del Maíz Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo Coahuila, México. 112 p.
- González VVM, Espinoza VJ, Mendoza VR, Alcalá RJM (2008) Hibridación entre poblaciones de maíces Poliembriónicos y de alto aceite. II. Calidad nutrimental de grano. *Memoria del XXII Congreso Nacional y II Internacional de Fitogenética, SOMEFI.* Chapingo, México, México. pp. 359.
- González VVM, Espinoza VJ, Musito RN, Gallegos SJE (2006) Hibridación varietal entre maíces poliembriónicos y de alto aceite. I. Comportamiento en plántula. *Memoria XXI Congreso Nacional I Internacional de Fitogenética de SOMEFI, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.* pp. 158.
- Gutiérrez RA, Paul MS, Otto RL, Menz M, Betrán J (2008) Phenotypic characterization of quality protein maize endosperm modification and amino acid contents in a segregating recombinant inbred population. *Crop Sci.* 48: 1714-1722.
- Hallauer AR & Miranda JB (1988) *Quantitative Genetics in Maize Breeding.* 2nd Ed. ISU Press: Ames. 468 p.
- Huang S, Whitney RA, Zhou Q, Kathleen PM, Dale AV, Jan A, Alan LK, Luethy MH (2004) Improving nutritional quality of maize proteins by expressing sense and antisense zein genes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 52(7): 1958-1964.
- Klung SW & Cummings MR (2000) *Conceptos de Genética.* 5a Edición. Ed. Pearson Educación. España. 814 p.
- Lambert RJ (1994) High-oil corn hybrids, in *Specialty Corns*, edited by A. R. Hallauer. CRC Press, London. pp. 123-145.

- Lambert RJ, Alexander DE, Mejaya IJ (2004) Single kernel selection for increased grain oil in maize synthetics and high-oil hybrid development. *Plant Breed. Rev.* 24 (Pt. 1): 153-175.
- Lamkey KR, Lee M (2006) *Plant breeding: The Arnel R. Hallauer International Symposium*. 1ra ed. Ed. Blackwell Publishing. Australia. pp. 18, 19, 335-337.
- Martínez GP, Gradziel TM (2003) Sexual polyembryony in almond. *Sex Plant Reprod* 16: 135-139.
- Mendoza EM, Andrio EE, Juárez GJM, Mosqueda VC, Latounerie ML, Castañón NG, López BA, Moreno ME (2006) Contenido de lisina y triptófano en genotipos de maíz de alta calidad proteica y normal. *Universidad y Ciencia* 22 (2): 153-161.
- Morgan DT, Repleye RD (1951) Polyembryony in maize and lily, following X-irradiation of the pollen. *Jour. Hered.* 41: 90-93.
- Musito RN, Espinoza VJ, González VVM, Gallegos SJE, De León CH (2008) Características de Plántulas en Familias Derivadas de Una Población de Maíz Poliembriónico. *Rev. Fitotec. Mex.* 31 (4): 399-402.
- Pesev N, R Petrovic, Lj Zecevic & M Milosevic (1976) Study of possibility in raising maize inbred lines with two embryos. *Theor. Appl. Genet.* 47: 197-201
- Pilu R (2000) The twin trait maize. *Maize Gen. Coop. News.* 74: 51.
- Rodríguez HS, Castro GME (1978) Estudio sobre herencia de semilla con dos embriones. *Avances de investigación en maíz. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo Coah. Mex.* pp. 19.
- Sharman, B.C. 1942. A twin seedling in *Zea Mays* L. twinning in the gramineae. *The New Phytologist.* 41, 2: 125-129.
- Thomison PR, Geyer AB, Lotz LD, Siegrist HJ, Dobbels TL (2003) Top cross high oil corn production: select grain quality attributes. *Agron. J.* 95: 147-154.
- Valdez LEL (2005) Ganancia en calidad nutrimental del grano como respuesta asociada a la selección para poliembrionía en maíz. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 92 p.
- Valdez LEL, Espinoza VJ, Aguilera CAF, Reyes-Vega ML (2004) Fatty acids in polyembryonic maize. *Book of Abstract. Institute of Food Technologist 2004 Annual Meeting. Las Vegas, Nevada. July 12-16, 2004.* p 29.
- Vázquez CMG, Escobedo MD, González CA, Turrént FA y Tut CC (2005) Contenido de proteína, lisina y triptófano en maíces de calidad proteínica (ACP) con diferente manejo agronómico. *Agric, Téc. Méx.* 31(2): 191-202.
- Vidal MVA, Vázquez CG, Coutiño EB, Ortega CA, Ramírez DJL, Valdivia BR, Guerrero HMdeJ, Caro VFdeJ, Cota AO (2008) Calidad Proteínica en colectas de maíces criollos de la sierra de Nayarit, México. *Rev. Fitotec. Mex.* 31 (3): 15-21.
- Villegas E, Ortega E, Bauer R (1984) Chemical methods used at CIMMYT for determining protein quality in cereal grains. México: CIMMYT. México. 35 p.