POLIEMBRIONÍA EN MAICES DE PORTE NORMAL Y ENANO¹

José Espinoza², M. Cristina Vega², Enrique Navarro², Gustavo A. Burciaga²

RESUMEN

Poliembrionía en maices de porte normal y enano. El Instituto Mexicano del Maíz (IMM) ha generado poblaciones de maíz, que incluyen la caracteóstica de poliembrionía (PE). El fenómeno es de interés considerando que dos o más embriones por semilla pudieran significar un mayor contenido de aceite y proteína embrionaria, aunado al ahorro en semillas para alcanzar una población determinada por unidad de superficie. La población fundadora (1973) presentó 1,5% de PE observada como "plantas gemelas" por semilla; a partir de 1975 se aplicaron esquemas de selección recurrente proponiéndose incrementar la frecuencia de PE, lo que se logró a niveles de 47% para 1991, año en que la población base se separó en enanas y normales; para 1996, las dos poblaciones superaron el 60% de PE. Durante los últimos cinco años, el manejo reproductivo de los grupos poliembriónicos ha sido a través de cruzas fraternales con mezcla de polen. En un ciclo determinado, se selecciona en campo de 200 a 250 familias de medio hermanos (MHS) por población; cada MHS se representa por 50 semillas, las cuales se siembran individualmente bajo condiciones de invernadero. De aquí, se selecciona a las familias a transplantar, calificadas por su PE y germinación superior a 75%. El incremento en PE parece limitar la germinación de las semillas observando promedios inferiores a 90% en invernadero e inferiores a 60% en siembra directa.

ABSTRACT

Polyembryony in normal height and brachytic maize. The Mexican Maize Institute, in Saltillo, Northern Mexico, has developed maize populations polyembryonic traits. Polyembryony (PE) is interesting for at least two reasons: two or more embryos per seed can produce more oil and embryo protein, as well as savings in the number of seeds necessary to reach a certain population per unit area. The founding population (established in 1973) had 1.5% of PE, identified as "twin plants" by seed. Starting in 1975 different recurrent selection schemes have been applied in order to increase the PE frequency. By 1991 the selection response placed PE at 47%; then the base population was divided into two groups: brachytic and normal height. By 1996 these two populations showed a PE frequency above 60%. For the last 5 years, reproduction management of polyembryonic groups has been made through parental crosses with a mixture of pollen. Between 200 and 250 halfsib families (SHS) were selected in a given cycle in the field in each group; each SHS is represented by 50 seeds, which were individually planted and kept under greenhouse conditions. The families to be transplanted were selected from these according to their PE proportion and at least 75% germination. PE increase seems to limit seed germination to an average lower than 90% under greenhouse conditions, and lower than 60% under direct planting.



INTRODUCCIÓN

El fenómeno reproductivo conocido como poliembrionía (PE) está documentado ampliamente en varias especies vegetales a partir de Webber (1940) y observado experimentalmente por primera vez en maíz por Morgan; Rappleye (1951). La PE tiene implicaciones importantes en el estudio de la especie sobre embriogénesis y gen ética, 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.

Existe evidencia de que la PE en maíz tiene una base heredable de índole cuantitativa (Castro, 1979; Rodríguez, 1981); sin embargo, el comportamiento inconsistente en cuanto a la fijación de la PE en grupos gen éticos que incluyen la característica, permiten suponer la participación de otros fenómenos genético-reproductivos como la interacción núcleo-citoplasma y la parte-

¹ Presentado en la XLIII Reunión Anual del PCCMCA, Panamá 1997.

² Instituto Mexicano del Maíz "Dr. Mario E. Castro Gil". Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 25315 Buenavista, Saltillo, Coahuila. México.

nogénesis de tipo reduccional (Zverzhanskaya; Komarova; Grishina, 1986a; Zverzhanskaya; Komarova, 1986b; Zverzhanskaya; Grishina; Komarova, 1989); la ocurrencia de estos mecanismos pudieran originar, en alguna medida, individuos monoploides, aprovechables desde varios puntos de vista.

En el Instituto Mexicano del Maíz (IMM) se trabaja una línea de investigación que se propone incrementar la frecuencia de la PE en poblaciones experimentales, con fines de estudio sobre el fenómeno y en su momento, como base para generar nuevos materiales: híbridos y variedades, que se utilizarían la industria de aceites comestibles y la alimentación animal.

MATERIALES Y MÉTODOS

La población fundadora consistió de la mezcla de semillas producidas por un conjunto de plantas "gemelas"; estas plantas representaban no más de 1,5% de un grupo amplio de progenies emparentadas del tipo "tallo cuadrado", singularidad de dos plantas idénticas e íntimamente unidas (Castro, 1973; Rodríguez; Castro, 1978). Los descendientes de la población base presentaron los tipos siguientes: plantas normales, "gemelas" y tallo cuadrado, situación observable hasta la fecha, pero resaltando el incremento en la proporción de casos con semillas de dos o más embriones como respuesta a los diferentes esquemas de selección aplicados para aumentar la frecuencia de PE.

La población de gemelas del IMM ha recibido la adición de fuentes externas de germoplasma a 10 largo de su manejo, teniéndose como la más significativa la que cita Gómez (1980): "Para asegurar que la selección llevara a endogamia se hicieron cruzamientos de gemelas con materiales sobresalientes de El Bajío, Trópico Seco, Trópico Húmedo, Mesa Central (N. del A. en todas ellas se alude a genotipos para diferentes regiones de México), con el fin de inyectar variabilidad al sintético doble embrión...". A partir de 1992, la base germoplásmica de gemelas se dividió en dos poblaciones, las actuales "enana" y porte normal. El manejo reproductivo de las poblaciones desde entonces a la fecha ha sido a través de cruzas fraternales con mezcla de polen, partiendo de 200 a 300 familias de medios hermanos seleccionados (MHS) por población en campo e invernadero; en el primer caso, a la cosecha, se eligieron mazorcas sanas provenientes de plantas agronómicamente deseables; en el segundo, las MHS del ciclo inmediato anterior se evaluaron bajo condiciones de invernadero, seleccionando a las familias por su proporrión de PE v con una germinación superior a 75%.

Los procedimientos de siembra bajo invernadero y trasplante de estas poblaciones consistió en disponer 50 semillas por familia MHS, sembradas individualmente, en cajas de germinación de poliuretano (200 cavidades por caja), en suelo desinfectado compuesto por una mezcla de tierra de bosque templado y vermiculita (relación 7:3); la siembra se efectuó en primavera (abril o mayo) y se dejó crecer por un período de dos a tres semanas; en esta etapa se cuantificó la proporción de semillas germ\nadas y la presencia de plántulas múltiples (dos o más por semilla) en cada familia. Identificadas las MHS que representaron a cada población, se procedió al trasplante, utilizando de 30 a 45 plántulas por familia, las cuales se desprendieron de la caja de germinación tirando hacia arriba con un jalón moderado y se colocaron en surcos, suelo húmedo (tierra venida), previamente horadado con una estaca de mango largo; al colocar las plántulas en el agujero, se arrimó suelo para sellar, evitando la exposición de las raíces; una vez concluida la operación de trasplante, se irrigó, llenando los surcos con una lámina de agua de 10 cm de espesor. Después de esto, el establecimiento recibió un manejo agrícola convencional, se fertilizó con N:P (120:60 unidades) y se controló químicamente a las plagas que afectan al maíz en la región.

A partir de 1995, cada población (enana y normal) se manejó con dos subpoblaciones, representadas por un grupo que se seleccionó para alta PE y otro hacia baja PE. Las familias seleccionadas en los años 1993 y 94 igualaron o superaron la media PE de su población. Durante los dos años recientes, las familias se han seleccionado siguiendo el criterio de superar la media mas o menos la mitad de la desviación estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos que se presentan son valores promedio que caracterizan a las poblaciones .bajo selección, con énfasis en la poliembrionía. Los datos previos a 1993, son valores que se consignan en los anales de investigación del IMM y se presentan como aparecen en aquellos.

El Cuadro 1 presenta información disponible hasta 1983 señalando al autor, la proporción de PE y el procedimiento utilizado para concretarlo. La evidencia muestra que la selección practicada por 10 años ha permitido una concentración considerable de la poliembrionía, alcanzando un incremento 30 veces superior al punto de partida. En este primer decenio, se plantea una heredabilidad para PE de 0,65 (regresión progenie progenitores promedio, Castro, 1979); de 0,78 (heredabilidad realizada, tres ciclos de selección, Gómez, 1980);

Cuadro 1. Frecuencia de poliembrionía en maíz observada en poblaciones desarrolladas por el Instituto Mexicano del Maíz.

Investigador Año	o Por	centaje	Procedimiento
Castro G., M.	1973	1,5	Frecuencia de plantas gemelas en progenies emparentadas de tallo cuadrado.
Castro G., M.*	1975	4,0	Promedio de progenies de cruzas fraternales entre plantas normales, tallo cuadrado, plantas gemelas y sus combinaciones.
Rodríguez y Castro	1978	11,4	Dos sintéticos, integrados cada uno por las 10 familias de MH de mayor poliembrionía.
		7,4	Sintético integrado por las 10 familias con menor poliembrionía, polinizando sólo N x N.
Castro G., M.	1979	19,6	Tercer ciclo de selección recurrente (fusión de los dos sintéticos aludidos en 1978, vía cruzas dobles crípticas).
		33,3	Cuarto ciclo de selección a partir de las 13 mejores familias del ciclo anterior.
Rodríguez H., S.A.	1981	44,4	Quinto ciclo de selección recurrente entre familias de hermanos carnales.
		47,3	Sexto ciclo.
	1982	46,2	Séptimo ciclo. Segunda recombinación de familias seleccionadas del sexto ciclo.
Gómez G., J.	1983	46,6	Sexto ciclo. Programa de selección recurrente de la población "doble embrión".

^{*} Mencionado por Rodríguez y Castro (1978).

de 0,77+0,08 (regresión progenieprogenitor medio, Rodríguez, 1981). En todo caso, el índice de herencia permite suponer una influencia considerable de la varianza aditiva en el carácter. Esta condición permitió a Castro (1979) suponer que la frecuencia PE se incrementaría 30% en cada ciclo (regresión de frecuencias PE en cuatro ciclos). Al respecto, y tomando los datos de 1973 a 1983 (Cuadro 1), la regresión indica que la respuesta observada es del orden de 8,5% por ciclo. Cabe aquí mencionar que en el siguiente decenio (1983 a 1992) la información ha sido escasa y no consigna avance alguno en el incremento de la frecuencia del fenómeno.

Los datos que se presentan en adelante se refieren a los resultados obtenidos en el período 1993 a 1996. El Cuadro 2 presenta la PE promedio por ciclo y su desviación están dar. La ganancia promedio anual es del orden de 6% en la población enana, y de 8% en la de porte normal (bE = 6,3 y bN = 8,5); la magnitud de esta respuesta es similar a la observada en el primer decenio de esta línea de investigación, y rompe con la imposibilidad de superar el 50% de poliembrionía en las poblaciones bajo estudio.

Como puede observarse en los Cuadros 1 y 2, hasta 1983 la PE se había concentrado en un 47%, sin

Cuadro 2. Frecuencia de poliembrionía en estado de plántula (media + D.E.).

Población	1993	1994	1995	1996	
Enana	43 + 17	46 + 14	55 + 15	61 + 14	
Normal	36 + 16	47 + 15	51 + 19	63 + 13	

embargo, en 1993 la medida fue de 4% (enana) a 11% (normales) inferior a aquella. Esta situación refleja el manejo variado de las poblaciones, desde su fundación hasta la fecha, que incluye la inyección de nuevas fuentes de germoplasma y la consecuente recombinación genética; por otra parte, parece necesario observar el fenómeno desde otros mecanismos genético-reproductivos que pudieran intervenir de manera significativa en la manifestación de la PE. De cualquier manera, las dos poblaciones alcanzaron su máximo histórico en] 996, con 6] % para enanas y 63% en normales y previsiblemente, la variación presente podrá aprovecharse en ciclos futuros.

La manifestación más frecuente de la PE en maíz es la de dos plántulas por semilla, sin embargo, las medidas durante los tres últimos años indican una tendencia a incrementar los casos de tres o más plántulas como resultado de la selección (Cuadro 3). Esto pudiera significar mejores contenidos de nutrimentos de origen embrionario en grano y, por el otro lado, llegar a contar con una mayor cantidad de plantas por unidad de superficie a partir de una menor cantidad de semillas sembradas. En la comprensión de estas cualidades se requiere asociar la PE con un mayor tamaño y mejor poder de germinación de semilla.

Cuadro 3. Porcentaje de plántulas múltiples por semilla.

Población	1994		1995		1996	
	2	> 3	2	>3	2	>3
Enana	92	8	84	16	88	12
Normal	87	13	83	17	79	21

Como se señaló antes, las familias MHS calificadas en invernadero se transplantaron a campo abierto; en esta operación se pudo cuantificar el número de plántulas múltiples (dos o más por semilla) que representan a cada población y las que lograron fructificar al final del ciclo. Los datos de los dos últimos años se presentan en el Cuadro 4 y de los cuales se puede concluir que la "persistencia" de plantas múltiples por cepellón transplantado es del orden de 73%, los casos que terminan en una sola planta es de 13%, y los que no sobreviven es de 14%, sin ninguna tendencia particular en cuanto a tipo de porte o población.

Cuadro 4. Porcentaje* de persistencia de plantas múltiples provenientes de una semilla poliembriónica, trasplantadas a campo abierto.

Población	Al A fructificación			
	trasplante	> 2 plantas	Una planta	Faltantes
Enana 1995	2.680	1.911	384	385
	(100%)	(71%)	(14%)	(14%)
Enana 1996	2.180	1.699	256	225
	(100%)	(78%)	(12%)	(10%)
Normal 1995	2.903	2.115	351	437
	(100%)	(73%)	(12%)	(15%)
Normal 1996	2.276	1.642	294	340
	(100%)	(72%)	(13%)	(15%)

^{*} En todos los casos el dato superior es el número de plantas y el inferior es la proporción con respecto al total (segunda columna).

Cuadro 5. Porcentaje de germinación de poblaciones seleccionadas para alta poliembrionía, en invernadero.

Población	1993/94	1994/95	1995/96
Enana	78 + 12	88 + 9	83 + 9
Normal	83 + 12	90 + 10	85 + 10

El Cuadro 5 contiene el porcentaje de germinación de las poblaciones constituidas por las MHS seleccionadas en campo un año anterior y evaluadas en invernadero, previamente al trasplante; como puede apreciarse, ninguna población superó en promedio el 90%, observándose las menores proporciones en la población de enanas; esto es así a pesar de que se trasplanta sólo a familias con una germinación superior o igual a 75%. Es muy probable que la germinación y la poliembrionía sean dos variables complejas, negativamente asociadas, aunque las evidencias observadas no comprueben el caso plenamente, como lo menciona Rodríguez (1981), y el hecho de que se encuentran casos de familias con PE de más de 90% y germinación superior a 85% en las poblaciones actuales.

Un aspecto que se estudió recientemente (1995 y 1996) es el comportamiento de las poblaciones PE bajo siembra directa, observando tanto la germinación como la persistencia de la condición PE post-germinación. Los datos disponibles se presentan en el Cuadro 6. La información de 1995 corresponde a siembra directa en el Campo Experimental "Dr. Mario E. Castro Gil", localizado en Tepalcingo, Morelos, México (altitud 1700 m.s.n.m., clima de trópico seco), siembras de otoñoinvierno; la de 1996 se estableció en Rosamorada, Nayarit, México (altitud 30m, clima subtropical), también siembras de noviembre 1996, floración en febrero, 1997. Al respecto cabe destacar que en ambos casos la germinación no superó el 60% y que la frecuencia de PE en plántula se redujo en alguna medida (25%) a la esperada, pero la persistencia fue superior a la observada cuando se trasplantó. Esta información preliminar es relevante ya que la selección se ha practicado con base

Cuadro 6. Porcentaje de germinación de familias de medio hermanos, poliembriónicas, siembra directa.

Población	% Germinación			
	Tepalcingo, Mor. 1995	Rosamorada, Nay. 1996		
Enana	55 + 18	57 + 15		
Normal	57 + 19	59 + 12		

en la PE de plántula germinada bajo condiciones de invernadero, situación que pudiera estar enmascarando la competencia de las semillas PE para tener éxito bajo condiciones agrícolas maiceras convencionales.

Es oportuno señalar que la selección en contra de la PE que se inició a partir de 1995 tiene sólo un ciclo de observaciones, a publicar en futuras contribuciones.

Dos de las poblaciones de maíz manejadas por el Instituto Mexicano del Maíz de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro han concentrado el fenómeno de poliembrionía en frecuencia de 61 % (población enana) y 63% (población normal). Se puede demostrar que la persistencia en campo de plantas múltiples provenientes de una semilla es superior a 70% post-trasplante. En ambas poblaciones existe la tendencia de una asociación negativa entre éxito germinativo y alta poliembrionía; la germinación también se ve reducida a proporciones inferiores a 60% cuando se siembran en forma directa. En la línea de trabajo está por investigarse el contenido de nutrimentos de las semillas PE (proteína cruda, grasa y energía metabolizable); citogenéticomplementos genomiales; desarrollo embrionario; interacción núcleocitoplasma y generación de líneas endogámicas e hibridación.

LITERATURA CITADA

- CASTRO, G. M. 1973. Maíces superenanos para el Bajío. Boletín técnico. Escuela Superior de Agricultura "Antonio Narro" de la Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Coahuila. México.20 p.
- CASTRO, G. M. 1979. Estudio sobre herencia y valor nutritivo de semillas con doble embrión. Avances de investigación en maíz, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. S altillo, Coahuila. México. pp.24-25.
- GÓMEZ, G. J. 1980. Selección para alta frecuencia de semi llas de maíz con doble embrión. Avances de investigación. Instituto Mexicano del Maíz. Universidad Au-

- tónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. México. p.112.
- GÓMEZ, G. J. 1983. Estudio sobre herencia y valor nutritivo de semilla de maíz con doble embrión. Avances de investigación. Instituto Mexicano del Maíz. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. México. pp. 8-9.
- MORGAN, D.T. JR.; RAPPLEYE, R.O. 1951.

 Polyembryony in maize and lily, following X-irradiation of the pollen. J. Hered. 42:91-93.
- RODRÍGUEZ, H., S.; CASTRO, G. M. 1978. Estudio sobre herencia de semillas con dos embriones. Avances de investigación en maíz, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. México. p.19.
- RODRÍGUEZ H., S.A. 1981: Determinación de la heredabilidad y efectos de la selección para el caracter doble embrión en maíz (*Zea mays* L.). Tesis Lic. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. México. 48p.
- WEBBER, J.M. 1940. Polyembryony. Bol. Rev. 6(11):575-598.
- ZVERZHANSKAYA, L.S.; KOMAROVA P.I.; GRISHINA E. y. 1986a. Citoembryological and genetic study of nucleocytoplasmic maize hybrids. Apomiksis-i-Tsitoembriologiya-Rastenii. (Russian; abstract in English). 6:37-62.
- ZVERZHANSKAYA, L.S.; KOMAROVA, P.I. 1986b. Evaluating the evolutionary significance of reductional parthenogenesis. in Sovremennye problemy filogenii rastenii (ed. by Y.N. Tikhomirov) p.42-43. VII Moscow conference on plant phylogeny. Moscow, USSR.1(12):23-25
- ZVERZHANSKAYA, L.S.; GRISHINA, E.V.; KOMARO-VA, P.I. 1989. Study of the gametophyte and of grain set in monoploids of maize. Apomiksis-i-Tsitoembriologiya-Rastenii: Mezvuzovskii nauchnyi sbornik. USSR. (8):68-82.