ACUMULACIÓN DE ANTOCIANINAS EN PERICARPIO Y ALEURONA DEL GRANO Y SUS EFECTOS GENÉTICOS EN POBLACIONES CRIOLLAS DE MAÍZ PIGMENTADO

ANTHOCYANIN ACCUMULATION IN PERICARP AND ALEURONE LAYER OF MAIZE KERNEL AND THEIR GENETIC EFFECTS ON NATIVE PIGMENTED VARIETIES

Edgar Espinosa Trujillo[1, 2*], Ma. del Carmen Mendoza Castillo[1], Fernando Castillo González[1], Joaquín Ortiz Cereceres[1] †, Adriana Delgado Alvarado[3] y Alfredo Carrillo Salazar[1]

[1]Postgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Genética, Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo. Km 36.5 Carretera México-Texcoco. 56230, Montecillo, Texcoco, Estado de México. [2]Campo Experimental Bajío, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Km. 6.5 Carretera. Celaya–San Miguel de Allende. 38110 Celaya, Guanajuato, México. Tel. 461 611 5323 Ext. 161. [3]Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Km. 125.5 Carretera Federal México-Puebla. Santiago Momoxpan San Pedro Cholula. 72760, Col. La Libertad, Puebla, Puebla, México.

* *Autor para correspondencia* (edgaret@colpos.mx)

RESUMEN

En México hay amplia diversidad genética y fenotípica del maíz (*Zea mays* L.) para color de grano debido a la presencia de antocianinas y otros pigmentos. En este estudio se estimaron los efectos maternos (EM) y la aptitud combinatoria general (ACG) que inciden sobre el tamaño del pericarpio y de la capa de aleurona, así como sobre su capacidad para acumular antocianinas, en semilla de la generación F_1 de las cruzas posibles entre seis poblaciones criollas de maíz de colores de grano: púrpura (Rojo-1), azul (Azul-1), morado (Azul-2), rojo (Rojo-2), Amarillo y Blanco. Se observó una relación entre el color del grano y el contenido de antocianinas. El progenitor Rojo-1 presentó el mayor contenido de antocianinas (1269 mg kg^{-1} de grano), del cual 90.2 % se acumuló en el pericarpio; este progenitor superó a los demás progenitores en por lo menos 70.7 %. Hubo diferencias ($P \leq 0.05$) entre las 30 cruzas y los seis progenitores en el peso de pericarpio y del grano; en los contenidos de antocianinas en el pericarpio, en la aleurona y en el grano; y en el grosor del pericarpio y de la aleurona. Los EM y la ACG tuvieron la mayor importancia sobre las características estudiadas, y Rojo-1 y Azul-1 fueron los progenitores sobresalientes.

Palabras clave: *Zea mays*, antocianinas, aleurona, pericarpio, efectos maternos.

SUMMARY

In México there is a wide genetic and phenotypic diversity for kernel color in maize (*Zea mays* L.), which is determined by anthocyanins and other pigments. In the present study the maternal effects (ME) and general combining ability (GCA) on the pericarp and aleurone size, as well as on the storage capacity for accumulating anthocyanins, were estimated in kernels from the F_1 generation of the possible crosses among six maize native populations with different kernel colors: Red-1 (purple), Blue-1, Blue-2 (dwelled), Red-2 (red), Yellow and White. A relationship between kernel color and anthocyanin content was found. The Red-1 progenitor showed the highest anthocyanin content (1269 mg kg^{-1} of kernel), and 90.2 % of it was in the pericarp; this progenitor over rated the others by 70.7 %, at least. The 30 crosses and the six progenitors varied ($P \leq 0.05$) in pericarp and whole kernel weights, as well as in anthocyanin contents in pericarp, aleurone layer and whole kernel; they varied also in pericarp and aleurone thickness. ME and GCA were the genetic effects with larger significance on the analyzed characteristics. Blue-1 and Red-1 were the most outstanding progenitors under these criteria.

Index words: *Zea mays*, anthocyanins, aleurone, pericarp, maternal effects.

INTRODUCCIÓN

En México existe diversidad genética y fenotípica entre y dentro de las razas de maíz, que incluye la variación en color del grano desde blanco, amarillo, rojo y hasta negro, con diferentes grados de intensidad (Hernández, 1985). Los granos amarillos contienen carotenoides, los rojos y negros tienen antocianinas, mientras que los blancos carecen de estos pigmentos (Ford, 2000). Actualmente, se reconoce la relevancia nutracéutica de las antocianinas como antioxidantes, anticancerígenas y reductoras de triglicéridos y de colesterol (De Pascual y Sánchez, 2008). Aun cuando México es un país rico en maíces con este tipo de pigmentos, no se les ha dado la importancia como recurso genético para generar conocimiento que haga eficiente su aprovechamiento; de ellos tampoco se cuenta con variedades mejoradas, tecnología de producción en campo y de uso industrial, ni de aprovechamiento nutracéutico (Antonio *et al.,* 2004).

Para implementar un programa de mejoramiento de maíz con alto contenido de antocianinas, es necesario conocer los efectos genéticos y los componentes de varianza de las posibles poblaciones base (Suriyagoda y Peiris, 2007), para que de éstas se formen progenitores apropiados para la obtención de híbridos o variedades

Recibido: 19 de Junio del 2008
Aceptado: 13 de Octubre del 2009

(Shattuck *et al*., 1993). Al respecto, los diseños dialélicos permiten analizar un sistema de cruzamientos entre posibles progenitores, en tres niveles: 1) Las aptitudes combinatorias general y específica; 2) Los componentes de la varianza genética (aditividad o dominancia); y 3) La varianza aditiva (Wright, 1985).

La ruta de biosíntesis de antocianinas en la aleurona del endospermo del maíz involucra siete genes estructurales que codifican enzimas catalíticas, seis genes reguladores que codifican factores de transcripción, y dos genes que corresponden a transportadores del pigmento hacia las vacuolas (Cone, 2007), algunos de ellos con más de dos alelos por locus y que además presentan epistasis. Tales genes se encuentran en diferentes cromosomas, lo que indica ausencia de ligamiento (Ford, 2000). Los genes estructurales son activados por proteínas codificadas en los genes reguladores. Esta regulación se manifiesta en determinados tejidos y tiempos de desarrollo. En los tejidos del progenitor materno (pericarpio del cariópside, anteras, etc.) actúan los genes reguladores *C1*/*R1*, mientras que en los del esporofito en desarrollo (aleurona, escutelo, coleóptilo, y otros tejidos) se expresan los reguladores *Pl1*/*B1* (Bernhardt *et al.*, 1998). Esto indica que tanto la aleurona como el pericarpio son tejidos del grano de maíz con capacidad de biosintetizar y almacenar antocianinas, bajo la acción de factores de transcripción específicos para cierto órgano o tejido.

El presente estudio se hizo con el propósito de evaluar los efectos maternos, los efectos recíprocos y la aptitud combinatoria, que inciden sobre el tamaño y la capacidad de almacenamiento de antocianinas en el pericarpio y la aleurona de granos formados en la semilla de la generación F_1, derivada de las cruzas posibles entre seis poblaciones criollas de maíz contrastadas en color de grano, desde el púrpura hasta el blanco. Se espera que la acumulación de antocianinas sea diferente entre los tejidos del grano, en función del color, y que al hacer las cruzas posibles entre las poblaciones sea significativa la influencia del progenitor materno sobre la acumulación de tales pigmentos, lo que depende de la constitución genética de los tejidos del grano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material genético y sitio experimental

Mediante análisis multivariado de componentes principales y de agrupamiento, previo a este estudio se delimitaron seis grupos de poblaciones contrastados por su color de grano (Espinosa *et al.,* 2006), y de cada grupo se seleccionó una población. Estas seis poblaciones son similares fenotípicamente, principalmente en precocidad y porte, pero contrastadas en color de grano: 1) Púrpura (Rojo-1), población formada en el Colegio de Postgraduados para los Valles Altos de México (recombinación de una población de grano azul de Querétaro, México, con otra de Perú de grano púrpura); 2) Azul, de Tlaxcala (Azul-1); 3) Morado, de Hidalgo (Azul-2); 4) Rojo, de Puebla (Rojo-2); 5) Amarillo intenso (Amarillo), del Estado de México; y 6) Blanco (Blanco), del Estado de México.

Se hicieron cruzas entre las poblaciones conforme a un dialélico completo, así como incremento de semilla de cada población progenitora mediante cruzas fraternales, en Texcoco, Estado de México. La siembra de estos materiales se hizo el 25 de mayo de 2004 en parcelas de dos surcos de 5 m de largo por 0.7 m de ancho, con distancia ente plantas de 25 cm. La fertilización, el riego y el control de maleza se hicieron con base en las recomendaciones que se practican en la región (Anónimo, 1981). La cosecha (semilla F_1) se hizo en el mes de noviembre del mismo año, y se usaron mazorcas sanas para este estudio.

Biomasa del grano y de sus componentes

De las 30 cruzas (15 directas y 15 recíprocas) y los seis progenitores se tomaron tres mazorcas, y de la parte media de cada una se obtuvieron 25 granos, los cuales se humedecieron con agua destilada durante 3 h para separar el pericarpio (tejido materno derivado del ovario) y la semilla (endospermo que contiene a la capa de aleurona, que es la de interés en este estudio, más el embrión). Los 25 granos diseccionados en sus componentes se secaron por 24 h a 70 °C, y con una balanza analítica se midió el peso (mg) del pericarpio por grano (P_{per}), el peso de semilla (P_{sem}) y el peso individual del grano ($P_{grn} = P_{per} + P_{sem}$). Cada mazorca se consideró como una repetición.

Grosor de pericarpio y de aleurona

Para medir el grosor del pericarpio (G_{per}) y el de la aleurona (G_{ale}) se adaptó la metodología de Wolf *et al.* (1969), para lo cual se tomaron tres granos de la parte media de cada una de tres mazorcas de cada cruza y progenitor, y se humedecieron por 8 h para hacer cortes transversales semi-finos entre el ápice del escutelo y la corona del grano, bajo un microscopio estereoscópico Zeiss® con aumento de 10X, mediante una navaja metálica (Gillette®). Los cortes se colocaron en porta-objetos y se observaron en un microscopio óptico (Zeiss®) con aumento de 100X. Se hicieron mediciones del G_{per} y G_{ale} en dos sitios al azar del lado opuesto al embrión, que es donde más se concentra el pigmento, con un micrómetro ocular. Con la suma de $G_{per} + G_{ale}$ se

obtuvo el grosor total del tejido de almacenamiento de antocianinas por grano (G_{tejalm}). Las unidades del micrómetro se transformaron a micrómetros (μm).

Contenido de antocianinas en grano y componentes

Los pericarpios y las semillas de los 25 granos por repetición, se pulverizaron en un molino eléctrico (General Electric®, 0.25 HP, 415 g) y las partículas se pasaron por una malla de 0.5 mm. La extracción de antocianinas se hizo a partir de 1.0 g de harina de semilla que contenía la aleurona, y de 200 mg de harina de pericarpio. Se agregaron 25 mL y 5 mL, respectivamente, de solución de extracción (SE) compuesta con ácido clorhídrico (1N) y etanol de caña (96 °GL), en proporción 85:15 (v/v) con pH de 1.0. Las muestras se refrigeraron por 24 h a 4 °C, y posteriormente la fase superior se decantó en tubos Corex® y se centrifugó a 1200 g por 20 min a 4 °C (centrífuga Hettich EBA 12 R®, Alemania). De cada repetición se tomaron tres submuestras de 250 μL del extracto y se colocaron en una microplaca de 96 celdas para determinar su absorbancia en un espectrofotómetro Multiskan (Ascent®, Thermo Electron Co., Finlandia), previamente calibrado con 250 μL de SE, a una longitud de onda de 540 nm, la cual las antocianinas presentan máxima absorción.

Al valor de la absorbancia de cada cruza y progenitor se le sustrajo el valor de la absorbancia del progenitor blanco, para eliminar la interferencia de cualquier compuesto diferente a las antocianinas. El contenido total de antocianinas se calculó con la fórmula propuesta por Abdel-Aal y Hucl (1999): $A = (Ab/\xi) \times (Ve/1000) \times PM \times (1/Ph) \times 10^6$, donde A es la concentración de antocianinas, Ab es la absorbancia del extracto, ξ es el coeficiente de extinción de la cianidina 3-glucósido (25 965 cm^{-1} mol^{-1}), Ve es el volumen total del extracto, PM es el peso molecular de la cianidina 3-glucósido (449), y Ph es el peso total de la harina de cada muestra. El contenido total de antocianinas se expresó en mg/1000 granos en pericarpio (A_{per}), en aleurona (A_{ale}) y en grano completo ($A_{grn} = A_{per} + A_{ale}$), y en mg kg^{-1} de grano (A_{kg}).

Análisis estadísticos

Consistieron en análisis de varianza y pruebas de medias de Tukey de las variables de los progenitores, mediante el sistema SAS para Windows versión 9. Debido a la amplitud de dispersión de valores, que estuvo en correspondencia con la variación del color de las mazorcas producto de las cruzas, los datos A_{grn}, A_{per}, A_{ale} y A_{kg} fueron transformados de acuerdo con Edwards *et al.* (2001), que consiste en obtener la raíz cuarta del cociente del valor máximo observado con cada dato. El análisis de varianza de todas las variables se hizo con el algoritmo de Mastache y Martínez (2003), con el Modelo 2 y Método I de Griffing (1956); con ello, la variación entre las cruzas se partió en los correspondientes efectos principales de aptitud combinatoria general (ACG) y de efectos maternos (EM) de los progenitores, y los de interacción en las cruzas: aptitud combinatoria específica (ACE) y efectos recíprocos (ER).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características de los progenitores

Pericarpio. Los granos de los progenitores Azul-2, Rojo-1 y Rojo-2 tuvieron pericarpios pigmentados, desde trazas rojas hasta púrpura; el pericarpio de los progenitores Azul-1, Amarillo y Blanco no presentó antocianinas (Figura 1). Todas las poblaciones presentaron varias capas de células en el pericarpio. Su peso y proporción fue mayor ($P \leq 0.05$) en el progenitor Rojo-1 (40.3 mg/grano, y ocupó 7.8 % del peso del grano), seguido del Blanco (25.7 mg/grano) y menor e igual en los restantes (15.1 a 20.4 mg/grano). El G_{per} fue mayor ($P \leq 0.05$) en los progenitores Rojo-1 (109.4 μm) y Rojo-2 (107.2 μm), y este último fue el de mayor contribución al G_{tejalm} (72.7 %) (Cuadro 1). El G_{per} en el lado opuesto al del embrión, reportado por Wolf *et al.* (1969) e Ito y Brewbaker (1991), fluctúa desde 34 hasta 237 μm. El progenitor Rojo-1 acumuló el mayor ($P \leq 0.05$) contenido de A_{per} (586.9 mg/1000 granos) (Cuadro 2); el Azul-1, el Amarillo y el Blanco no acumularon este pigmento, como se muestra en la Figura 1.

Columba *et al.* (2007) reportaron valores de absorbancia del extracto de maíces amarillos y blancos a la longitud de 535 nm con lo que dedujeron la presencia de antocianinas. También Jing y Giusti (2007) encontraron que durante la espectrofotometría a esa longitud de onda, en un extracto de granos de maíz pigmentado, además de antocianinas, es factible encontrar proteínas del tipo de zeínas solubles en alcohol, cuyos valores de absorbancia podrían confundirse con los de antocianinas. Por ello, en el presente estudio se optó por sustraer la absorbancia del grano blanco para el cálculo del contenido de antocianinas. El Azul-2 y el Rojo-2 mostraron escaso contenido de A_{per} (de 1 a 6 mg/1000 granos).

Por ser México centro de origen-domesticación del maíz, se esperaría que dentro de las poblaciones criollas haya poblaciones con mayor grosor del pericarpio que el mostrado en estas seis poblaciones estudiadas, lo cual significa que es posible seleccionar aquéllas con mayor

proporción de este tejido, con lo que probablemente se aumente el potencial de acumulación del pigmento.

Aleurona. La capa de aleurona presentó los colores blanco, amarillo, rojo, morado, azul, y púrpura (Figura 1). El Rojo-1 presentó variación, desde rojo hasta púrpura, ya que su constitución genética se derivó de la recombinación de una hembra de pericarpio y aleurona púrpuras con un macho de aleurona azul. En todos los progenitores la aleurona consistió de una sola capa de células; no obstante, existen mutantes con aleurona constituida de al menos dos capas de células, cuyo grosor total varía de 50 a 120 µm (Nesticky y Piovarci, 1984). Sus colores, desde rojo hasta púrpura, indican la presencia de antocianinas, y el amarillo de carotenoides (Ford, 2000). El mayor G_{ale} lo tuvo Rojo-1 (53 µm), y los demás progenitores fueron inferiores e iguales entre sí (36 a 40 µm). La proporción de aleurona en el G_{tejalm} del progenitor Rojo-1 (32.6 %) fue similar a la del progenitor Amarillo (31.4 %), pero difirieron cualitativamente en el tamaño del grano (Cuadro 1). Al respecto, Wolf *et al.* (1972) encontraron variación del G_{ale} de 25 a 52 µm. Estos resultados indican que la capa de aleurona de Rojo-1 fue relativamente gruesa y con células de mayor tamaño.

El mayor contenido de A_{ale} ($P \leq 0.05$) lo tuvo el progenitor Azul-1 (126.2 mg/1000 granos) en la aleurona, ya que su pericarpio fue incoloro; valores intermedios los presentaron Rojo-1 (63.6 mg/1000 granos) y Azul-2 (47.8 mg/1000 granos), y Rojo-2 fue el que acumuló la menor cantidad (19 mg/1000 granos). Los progenitores Amarillo y Blanco no sintetizaron antocianinas en la aleurona (Cuadro 2). El que Azul-1 no haya tenido un valor sobresaliente de G_{ale}, evidencia la falta de correspondencia entre el grosor y la capacidad de almacenamiento del pigmento en la aleurona.

Grosor total del tejido de almacenamiento de antocianinas. Las poblaciones Rojo-1 (162.5 µm) y Rojo-2 (147.3 µm) presentaron el mayor G_{tejalm}, aunque difirieron en capacidad de biosíntesis y acumulación del pigmento (Cuadros 1 y 2).

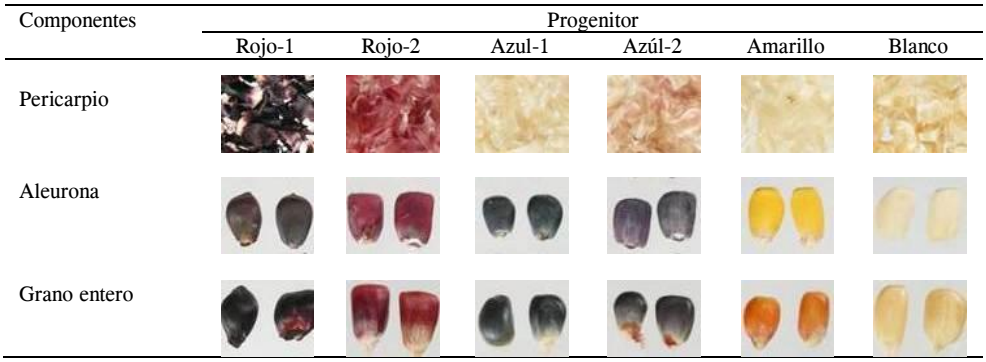


Figura 1. Colores del grano completo y sus componentes (pericarpio y aleurona) en seis poblaciones criollas de maíz contrastadas en color de grano.

Cuadro 1. Biomasa y grosor del tejido de almacenamiento de antocianinas en el grano de seis poblaciones criollas de maíz de colores contrastados.

Progenitor	Peso (mg)		Grosor (µm)		
	Pericarpio	Grano	Pericarpio	Aleurona	G_{tejalm}
Rojo-1	40.3 a (7.8)$^{\xi}$	514 a	109.4 a (67)$^{\xi}$	53.0 a (33)$^{\xi}$	162.5 a
Rojo-2	20.4 b (4.6)	443 a	107.2 a (73)	40.0 b (27)	147.3 ab
Azul-1	19.7 b (5.7)	341 a	89.9 ab (69)	40.6 b (31)	130.5 bc
Azul-2	15.1 b (4.7)	316 a	80.1 b (68)	36.8 b (32)	117.0 c
Amarillo	17.1 b (5.4)	313 a	74.2 b (67)	35.7 b (33)	109.9 c
Blanco	25.7 ab (5.6)	454 a	85.5 b (69)	39.0 b (31)	124.5 bc
DSH	18.0	257	21.1	10.4	24.4

Medias con la misma letra en una columna son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05); DSH = Diferencia significativa honesta; G_{tejalm} = Grosor del tejido de almacenamiento. $^{\xi}$Los valores entre paréntesis corresponden a la proporción del pericarpio con respecto al peso de grano, y del grosor del pericarpio y de la aleurona con respecto a G_{tejalm}.

Cuadro 2. Contenido de antocianinas en pericarpio, capa de aleurona y en grano completo de seis poblaciones criollas de maíz de colores contrastados.

Progenitor	Pericarpio	Aleurona	Grano	Grano (mg kg^{-1})
	(mg 1000/granos)			
Rojo-1	586.9 a	63.6 b	650.6 a	1269.4 a
Rojo-2	6.0 b	19.0 c	25.1 c	57.0 d
Azul-1	0.2 cd	126.2 a	126.5 b	371.7 b
Azul-2	1.0 bc	47.8 bc	48.8 c	154.0 c
Amarillo	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 e
Blanco	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 e
DSH	0.130	0.158	0.119	0.109

Medias con la misma letra en una columna son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05); DSH = Diferencia significativa honesta en valores transformados con los cuales se hizo el análisis de varianza.

La variabilidad encontrada en los tamaños de pericarpio y aleurona (peso, grosor y proporción) indica la oportunidad de seleccionar poblaciones de maíz con mayor capacidad de almacenamiento de antocianinas en el grano para considerarlos en el proceso de mejoramiento genético. En este sentido, Rojo-1 tuvo mayor contenido de antocianinas (1269.4 mg kg^{-1} de grano), de las que 90.2 % se acumularon en el pericarpio, y así superó al Azul-1 y demás progenitores en por lo menos 71 %. Se observó también una relación entre el color del grano y el contenido de pigmento por grano, lo cual también fue reportado por Abdel-Aal *et al.* (2006) en maíces con diversos grados de coloración y mediante la misma técnica de cuantificación de antocianinas (Rojo-2, 50-70 mg kg^{-1}; Azul-1, 196-322 mg kg^{-1}; Rojo-1, 1277 mg kg^{-1} de grano). Salinas *et al.* (2003) encontraron que durante el proceso de nixtamalización del maíz las antocianinas del pericarpio se pierden más que las de la aleurona. Pero si el objetivo fuera la extracción del pigmento para usos industriales y nutracéuticos (Yang *et al.,* 2008), el progenitor Rojo-1 sería el mejor porque tiene mayor contenido de antocianinas en el tejido de almacenamiento.

Análisis de varianza con el modelo dialélico

Aquí se optó por usar el modelo de efectos fijos descrito por Griffing (1956), puesto que las poblaciones progenitoras se seleccionaron convencionalmente con base en el color y en los días a floración. En consecuencia, no existe una población base sobre la cual estimar los componentes de varianza genética, y sólo interesa la información genética de este conjunto particular de progenitores (Wright, 1985). Este análisis de las cruzas permite determinar la relevancia de los efectos maternos (EM) en la progenie, mediante la estructura de un diseño dialélico completo (Roach y Wulff, 1987).

El grano de maíz (cariópside) se compone de tres tejidos genéticamente distintos: el pericarpio diploide, totalmente materno; el endospermo triploide, producto de tres juegos de cromosomas, dos de la madre y uno del padre; y el embrión (esporofito), tejido diploide producto de la fusión de la ovocélula con una célula espermática (Gonzalo *et al.*, 2007). La presente investigación se enfocó en determinar la ACG en la capa de aleurona, ya que en la semilla de la generación F_1 este tejido fue 3n, por ser producto de la cruza de los progenitores. Puesto que el pericarpio fue completamente materno, se determinaron los efectos maternos en este tejido y en la aleurona.

Hubo diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre las 30 cruzas y los seis progenitores en todas las variables estudiadas: P_{per}, P_{grn}, G_{per}, G_{ale}, G_{tejalm}, A_{per}, A_{ale}, A_{grn} y A_{kg} (Cuadro 3). También hubo efecto significativo ($P \leq 0.05$) de la ACG en la mayoría de las variables, con excepción de G_{per}, G_{ale} y G_{tejalm}, lo cual se justifica porque el pericarpio proviene sólo del aporte genético de la madre; pero su interpretación estadística es imprecisa porque la ACG se refiere a cualquier estructura fenotípica resultante de la combinación de gametos en una cruza (Griffing, 1956). El efecto sobresaliente de la ACG indica que el tipo de acción génica que se expresó en la semilla F_1 fue la aditividad en mayor magnitud, como lo propusieron Mahto y Ganguli (2003). Según Gilbert (1958), si el cuadrado medio debido a la ACG supera al de ACE, es factible predecir el comportamiento de los progenitores en sus cruzas; así, los progenitores con valores altos de ACG contribuyen en mayor medida en la expresión de la característica bajo estudio. También el efecto de la ACE fue significativo ($P \leq 0.05$) en todas las variables, excepto en P_{grn}. Adicionalmente, el EM tuvo efecto significativo ($P \leq 0.05$) en casi todas las variables, con excepción de G_{ale} y G_{tejalm}, lo que indica la contribución importante de la madre en las cruzas. Los efectos recíprocos (ER) sólo resultaron significativos ($P \leq 0.05$) para G_{tejalm}, por lo que las cruzas directa y recíproca no fueron equivalentes. La predominancia de los EM se observó por la mayor magnitud de sus cuadrados medios (1.4 a 40.9 veces) con respecto a los de ER.

Efectos maternos y de aptitud combinatoria general

Los EM y la ACG tuvieron la mayor importancia relativa sobre las variables estudiadas (Cuadro 4). El progenitor Rojo-1 tuvo EM significativos en G_{per}, P_{per}, P_{grn}, A_{per}, A_{grn}, A_{ale}, y A_{kg}; también de ACG en A_{grn} y A_{kg}. Rojo-1 tuvo valores de EM similares estadísticamente en G_{per} con el Azul-2 y con el Amarillo, y similar al Azul-1 en A_{ale}, lo cual se explica porque en Azul-1 todo el

pigmento se almacenó en la capa de aleurona (Figura 1, Cuadro 2), e inferior al Blanco en P_{grn}. Se ha señalado que para los EM existen tres clases: el efecto genético del embrión, el efecto genético del endospermo y el efecto fenotípico del tejido materno (óvulo) (Gonzalo *et al.*, 2007). El efecto significativo de los EM sobre la acumulación de antocianinas en la aleurona indica que los genes responsables de la biosíntesis de antocianinas se expresaron en mayor magnitud al ser heredados por la madre. Según Sokolov (2006), este fenómeno no está en concordancia con un principio mendeliano que supone la expresión igual de los genes en la progenie, sin importar si son heredados por la madre o por el padre; en cambio señala, con base en estudios moleculares, que el efecto de la madre sobre la pigmentación de la aleurona se debe a la "impresión alélica", donde la mayor expresión de algunos alelos de genes para pigmentación depende del progenitor que los transmite; es decir, depende de la dirección de la cruza.

Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de varianza de la biomasa del grano, grosor del tejido de almacenamiento y contenido de antocianinas, en un dialélico completo entre seis poblaciones criollas de maíz contrastadas en color de grano.

FV	Gl	P_{per}	P_{grn}	G_{per}	G_{ale}	G_{tejalm}	A_{per}	A_{ale}	A_{grn}	A_{kg}
Cruzas	35	0.09**	13.2*	4541.3**	551.0**	5931.3**	0.144**	0.200**	0.140**	0.158**
ACG	5	0.30**	47.0**	3204.2 ns	708.0 ns	5428.9 ns	0.594**	1.163**	0.715**	0.833**
ACE	15	0.06*	6.9 ns	3019.8**	497.8**	3365.1**	0.016**	0.019**	0.013**	0.013**
EM	5	0.12**	20.1**	12958.0*	672.2 ns	15812.3 ns	0.350**	0.153**	0.217**	0.225**
ER	10	0.01 ns	2.3 ns	3278.8**	491.4**	5091.3**	0.009 ns	0.008 ns	0.005 ns	0.006 ns
Error	72	0.03	7.0	469.6	86.1	603.0	0.005	0.007	0.003	0.004
CV (%)		25.7	21.7	23.4	21.5	18.2	30.4	16.2	15.4	15.3

FV= Fuente de variación; Gl = Grados de libertad; CV = Coeficiente de variación; P_{per} = Peso del pericarpio; P_{grn} = Peso de grano; G_{per} = Grosor de pericarpio; G_{ale} = Grosor de la aleurona; G_{tejalm} = Grosor del tejido de almacenamiento de antocianinas; A_{per} = Contenido de antocianinas en el pericarpio de mil granos; A_{ale} = Contenido de antocianinas en la aleurona de mil granos; A_{grn} = Contenido de antocianinas en mil granos; A_{kg} = Contenido de antocianinas por kg de grano. El contenido de antocianinas corresponde a valores transformados. En el grosor del pericarpio, aleurona y total, los grados de libertad del error fueron de 396 por el mayor número de repeticiones. ** = significancia a 1 % de error; ns = no significativo.

Cuadro 4. Valores de efectos maternos y de aptitud combinatoria general sobre las características morfológicas del grano y acumulación de antocianinas de seis poblaciones criollas de maíz contrastadas en color de grano.

Progenitor	Efectos maternos (EM)						
	G_{per}	P_{per}	P_{grn}	A_{per}	A_{ale}	A_{grn}	A_{kg}
Rojo-1	9.7 a	3.0 a	29.6 a	90.0 a	12.9 a	103.0 a	244.1 a
Rojo-2	0.4 b	-1.3 d	6.1 d	-29.1 b	-6.9 b	-36.1 c	-86.7 c
Azul-1	2.1 b	1.2 b	8.1 b	-9.5 b	11.8 a	2.3 b	-1.3 b
Azul-2	9.9 a	-1.4 e	-40.5 f	-26.5 b	-8.6 b	-35.2 c	-81.1 c
Amarillo	10.9 a	-1.6 f	-10.8 e	-11.2 b	-4.5 b	-15.8 c	-38.9 b
Blanco	-11.4 c	0.1 c	7.4 c	-13.5 b	-4.6 b	-18.1 c	-35.8 b
DSH	4.4	0.002	0.03	28.2	8.9	26.5 c	60.0
	Aptitud combinatoria general (ACG)						
Rojo-1	--	--	25.5 c	--	15.5 b	177.4 a	365.5 a
Rojo-2	--	--	30.9 b	--	-2.2 d	-23.1 c	-52.8 d
Azul-1	--	--	-6.4 d	--	31.6 a	-7.7 b	14.0 b
Azul-2	--	--	-52.6 f	--	4.2 c	-21.8 c	-26.3 c
Amarillo	--	--	-31.2 e	--	-24.4 e	-63.1 d	-147.5 e
Blanco	--	--	33.6 a	--	-24.6 e	-61.6 d	-152.8 e
DSH	--	--	0.01	--	3.3	9.8	22.3

DSH=Diferencia mínima significativa (Griffing, 1956); G_{per} = Grosor de pericarpio; P_{per} = Peso del pericarpio; P_{grn} = Peso de grano; A_{per} = Contenido de antocianinas en el pericarpio de mil granos; A_{ale} = Contenido de antocianinas en la aleurona de mil granos; A_{grn} = Contenido de antocianinas en mil granos; A_{kg} = Contenido de antocianinas por kg de grano; -- = Datos no considerados en el análisis. Los valores de ACG y EM del contenido de antocianinas se calcularon con los valores observados.

Con este trabajo se aportan conocimientos de genética cuantitativa, como efectos aditivos y maternos, que apoyan los criterios a considerar en el mejoramiento genético del maíz por selección recurrente, con fines de aumentar la producción de antocianinas por unidad de superficie.

CONCLUSIONES

En el progenitor Rojo-1, además de la aleurona, el pericarpio acumuló la mayor cantidad de antocianina. El tamaño de biomasa, grosor y proporción del pericarpio y de la aleurona varió entre progenitores, pero sin tener relación con el contenido de antocianinas en el grano. El contenido total de antocianinas estuvo relacionado con el color del grano, de tal forma que los más oscuros tuvieron la mayor concentración, con base en el número y el peso de los granos. El tamaño de la aleurona y su contenido de antocianinas en la semilla de la generación F_1 varió entre cruzas por efecto de la aptitud combinatoria general (ACG) y de los efectos maternos (EM), principalmente. En cambio, en el pericarpio predominaron los EM. Los efectos aditivos (ACG) y maternos dan lugar al mejoramiento genético del contenido de antocianinas en el grano y de sus componentes morfológicos, vía selección recurrente.

BIBLIOGRAFÍA

Abdel-Aal E S M, P Hucl (1999) A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. Cer. Chem. 76:350–354.

Abdel-Aal E S M, J C Young, I Rabalski (2006) Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. J. Agric. Food Chem. 54:4696-4704.

Anónimo (1981) Guía para la Asistencia Técnica Agrícola. Valle de México. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Campo Agrícola Experimental Valle de México, Chapingo, Edo. de México. 135 p.

Antonio M M, J L Arellano V, G García de los S, S Miranda C, J A Mejía C, F V González C (2004) Variedades criollas de maíz azul raza chalqueño: características agronómicas y calidad de semilla. Rev. Fitotec. Mex. 27:9-15.

Bernhardt J, K Stich, Z Schwarz-Sommer, H Saedler, U Wienand (1998) Molecular analysis of a second functional *A1* gene (dihydroflavonol 4-reductase) in *Zea mays*. Plant J. 14:483–488.

Columba de la P, S O Serna S, R H Liu (2007) Antioxidant activity of corn for production of masa, tortillas and tortilla chips. J. Agric. Food Chem. 55:4177-4183.

Cone K C (2007) Anthocyanin synthesis in maize aleurone tissue. Plant Cell Monographs 8:121-139.

De Pascual T S, M T Sánchez B (2008) Anthocyanins: from plant to health. Phytochem. Rev. 7:281-299.

Edwards J, D Stoltzfus, P A Peterson (2001) The *C1* locus in maize (*Zea mays* L.): effect on gene expression. Theor. Appl. Genet. 103:718-724.

Espinosa T E, M C Mendoza C, F Castillo G (2006) Diversidad fenotípica entre poblaciones de maíz con diferentes grados de pigmentación. Rev. Fitotec. Mex. 29 (Núm. Esp. 2):19-23.

Ford R H (2000) Inheritance of kernel color in corn: explanations and investigations. Amer. Biol. Teacher 62:181-188.

Gilbert N E G (1958) Diallel cross in plant breeding. Heredity 12:477–492.

Gonzalo L M, T J Vyn, J B Holland, L M McIntyre (2007) Mapping reciprocal effects and interactions with plant density stress in *Zea mays*. Heredity 99:14-30.

Griffing B (1956) A generalized treatment of the use of diallel crosses in quantitative inheritance. Heredity 10:31-50.

Hernández X E (1985) Maize and man in the greater southwest. Econ. Bot. 39: 416-430.

Ito G M, J L Brewbaker (1991) Genetic analysis of pericarp thicknes in progenies of eight corn hybrids. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 116:1072-1077.

Jing P, M M Giusti (2007) Effects of extraction condition on improving the yield and quality of an anthocyanin rich purple corn (*Zea mays* L.) color extract. J. Food Sci. 72:363-368.

Mahto R N, D K Ganguli (2003) Combining ability analysis in inter varietal crosses of maize (*Zea mays* L.). Madras Agric. J. 90:29-33.

Mastache L A A, A Martínez G (2003) Un algoritmo para el análisis, estimación y predicción de experimentos dialélicos balanceados. Rev. Fitotec. Mex. 26:191-200.

Nesticky M, Piovarci A (1984) Influence of aleurone thickness on lysine content of maize kernels. Zeitschrift für Pflanzenzüchtung 92:173-176.

Roach D A, R D Wulff (1987) Maternal effects in plants. Ann. Rev. Ecol. Syst. 18:209-235.

Salinas M Y, F Martínez B, M Soto H, R Ortega P, J L Arellano V (2003) Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados. Agrociencia 37:617-628.

Shattuck V I, B Christie, C Corso (1993) Principles for Griffing's combining ability analysis. Genetica 90:73-77.

Sokolov V A (2006) Imprinting in plants. Russian J. Gen. 42:1043-1052.

Suriyagoda L D B, B L Peiris (2007) Estimating genetic parameters from diallel experiments using SAS/IML. Sri Lankan J. Appl. Stat. 8:83-94.

Wolf M J, I M Cull, J L Helm, M S Zuber (1969) Measuring thickness of excised mature corn pericarp. Agron. J. 61:777-779.

Wolf M J, H C Cutler, M S Zuber, U Khoo (1972) Maize with multilayer aleurone of high protein content. Crop Sci. 12:440-442**.**

Wright A J (1985) Diallel designs, analyses, and reference populations. Heredity 54:307-311.

Yang Z, G Fan, Z Gu, Y Han, Z Chen (2008) Optimization extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) cob using tristimulus colorimetry. Europ. Food Res. Technol. 227:409-415.