

## DIVERSIDAD FENOTÍPICA ENTRE POBLACIONES DE MAÍZ CON DIFERENTES GRADOS DE PIGMENTACIÓN

### PHENOTYPIC DIVERSITY AMONG MAIZE POPULATIONS WITH DIFFERENT DEGREES OF PIGMENTATION

Edgar Espinosa-Trujillo<sup>1\*</sup>, Ma. del Carmen Mendoza-Castillo<sup>1</sup> y Fernando Castillo-González<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Postgrado en Genética, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados. Km. 36.5 Carr. México-Texcoco. 56230, Montecillo, Texcoco, Edo. de México. Tel y Fax: 01(595) 952-0262.

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

#### RESUMEN

Uno de los componentes de la diversidad fenotípica del maíz (*Zea mays* L.) es el color del grano. Para explorar la variación de tal característica y el comportamiento agronómico, 114 poblaciones nativas de varios estados de la Meseta Central de México, se caracterizaron visualmente por su color de grano y se preclasificaron en 5 grupos. En Montecillo, Edo. de México, se establecieron cinco experimentos en 2003 usando el diseño de bloques completos al azar, uno por grupo de color de grano, para evitar la interferencia del polen. Se tomó una muestra de tres mazorcas por parcela y el color de grano se registró de dos maneras: cuantitativamente, con un colorímetro (luminosidad, cromaticidad y tinte), y cualitativamente por su calificación visual, desde el blanco hasta el negro. Se midió el tamaño de la mazorca y del olote, tamaño y peso del grano, así como los días a floración masculina y femenina. El análisis multivariado de las cuatro variables del color permitió la clasificación de las 114 poblaciones en seis grupos: blanco (28 poblaciones), amarillo (44), anaranjado (4), rojo (15), azul (18) y púrpura (5). Hubo diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre los grupos de color para días a floración masculina y femenina, número de hileras por mazorca, longitud y ancho de grano, diámetro de mazorca y del olote; sin embargo, la longitud de mazorca, el número de granos por hilera y el peso de grano por mazorca fueron similares entre grupos. Las poblaciones con granos pigmentados fueron precoces, de granos más grandes, con olotes angostos y con mayor diámetro de mazorca, que los no pigmentados.

**Palabras clave:** *Zea mays*, color de grano, maíz azul, caracteres agronómicos.

#### SUMMARY

Kernel color is one of the components of maize (*Zea mays* L.) phenotypic diversity. In order to explore variation on such a trait and agronomic performance, 114 maize populations native of several states of the Mexican Central Plateau, were characterized for kernel color based on visual perception, and preclassified into five groups.

Five experiments under randomized complete blocks design were established, at Montecillo, state of México in 2003, one per kernel color, in order to prevent pollen interference. Three ears per plot were sampled and kernel color was recorded in two ways: quantitatively by using a colorimeter (lightness, chroma, and hue), and qualitatively by visual classification from the lightest to the darkest. Besides, information on ear, cob, and kernel dimensions and weight were recorded, as well as days to tasseling and silking. Multivariate analyses on four color parameters allowed classification of the 114 maize populations into 6 groups: white (28 populations), yellow (44), orange (4), red (15), blue (18), and purple (5). There were significant differences ( $P \leq 0.05$ ) among color groups for traits such as days to tasseling and silking, number of rows on ear, kernel length and width, and ear and cob diameter. On the other hand, ear length, kernels per row, and grain weight per ear were similar among color groups. Populations with colored kernels were earlier and with greater kernel size, along with narrower cob and greater ear diameter, than non-colored kernels.

**Index words:** *Zea mays*, kernel color, blue maize, agronomic traits.

#### INTRODUCCIÓN

La diversidad del maíz (*Zea mays* L.) en México se ha clasificado al menos en 59 razas, con base en caracteres morfológicos y polimorfismos de isoenzimas (Sánchez *et al.*, 2000), más algunas variantes con marcadores moleculares como microsatélites (Santacruz *et al.*, 2004). Como variantes dentro de razas se tienen tipos por coloración de grano; tal color se determina por la frecuencia de pigmentos como carotenoides en los granos amarillos (Egesel *et al.*, 2003), antocianinas y flobafenos en los azules o rojos (Irani *et al.*, 2003). Para hacer un estudio colorimétrico se determinan las variables: luminosidad (L), que cuantifica la opacidad y oscila entre blanco y negro; la combinación de rojo y verde (a), y la combinación de amarillo y azul (b). Con las últimas dos variables se derivan el tinte (H) y la cromaticidad (C), parámetros que caracterizan objetivamente el color (McGuire, 1992). Algunas razas de maíz se han estudiado en sus variantes de granos de colores rojo y azul, mediante el análisis de los valores de L, a y b, en granos enteros (Salinas *et al.*, 1999) y en harina (Salinas *et al.*, 2003), sin considerar el tinte y la cromaticidad. Estos antecedentes muestran la necesidad de contar con una interpretación más completa, así como de ampliar el tipo de estudio de la diversidad genética y el color de grano. El objetivo de este trabajo fue analizar la variación del color de grano de un grupo numeroso de poblaciones que permita su clasificación, como estrategia previa al estudio de la estructura genética de poblaciones pigmentadas y con características agronómicas sobresalientes.

#### MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron 114 poblaciones originarias de Chihuahua, Durango, Hidalgo, Querétaro, Veracruz, Estado de México, Morelos, Puebla, Tlaxcala, y Oaxaca; que fueron

seleccionadas por su adaptación, rendimiento, precocidad y coloración de grano, sobresalientes en los Valles Altos Centrales de México. Con base en el color de grano como criterio, las poblaciones se clasificaron subjetivamente en cinco grupos (blanco precoz, blanco intermedio, amarillo, rojo y azul) para establecerlas en experimentos en el Campo Agrícola Experimental “Montecillo”, del Colegio de Postgraduados, durante el ciclo Primavera-Verano de 2003. En cada experimento se usó el diseño de bloques completos al azar, con unidad experimental de un surco de 5 m de largo y 0.8 m de ancho, con 21 plantas. El número de bloques varió de 2 a 4.

Respecto al manejo agronómico, no hubo control de la polinización al suponer que el efecto de xenia no es significativo sobre el color de la capa de aleurona (Cross y Alexander, 1984). Adicionalmente, para reducir tal efecto las poblaciones de color similar se establecieron en un solo experimento. Se aplicaron cuatro riegos y la fórmula de fertilización 120N-60P-00K. Se realizó control químico de arvenses en dos ocasiones. Se registró el número de días a la floración masculina (DFM) y femenina (DFF), cuantificados a partir de la siembra. Se tomó una muestra de tres mazorcas por surco, representativas de la población, para medir las variables agronómicas: longitud y diámetro de mazorca (LMz y DMz); diámetro del olote (DOI); ancho del grano (AGr); longitud del grano (LGr), en cm; número de hileras (HMz); número de granos por hilera (GrH); peso individual del grano (PiGr); y peso de grano por mazorca (PGrMz), en g. Se hizo una determinación colorimétrica y una calificación visual del color de grano en dos bloques por experimento. La calificación visual (V) se hizo con la escala: 1 = blanco; 2 = crema; 3 = amarillo; 4 = anaranjado; 5 = morado; 6 = vino; 7 = gris; 8 = negro. Para el estudio colorimétrico se colocó una muestra de granos de cada una de las tres mazorcas en recipientes de plástico de 50 mL, para medir las variables L (luminosidad o brillo), *a* y *b* con el equipo Hunter Lab Modelo 45/O (Hunter Associates Laboratory, Reston, VA.).

Con *a* y *b* se calculó: 1) El tinte ( $H = \arctan \frac{a}{b}$ ), que es

un valor angular que indica el cuadrante correspondiente al color de la muestra en un sistema cartesiano, donde el eje X corresponde a los valores de *a* y el eje Y a los de *b* (0° = color rojo-púrpura; 90° = amarillo; 180° = azul-verdoso; y 270° = azul); y 2) La cromaticidad, que indica la intensidad o concentración del color predominante dentro del cuadrante (McGuire, 1992), se calculó con la fórmula:  $C = \sqrt{a^2 + b^2}$ . Con las variables de color de las 114 poblaciones (V, L, C y H) se construyó la matriz de datos y se hizo un análisis de conglomerados con base en

las distancias euclidianas, con el método del ligamiento promedio, y el número de grupos se determinó con el criterio cúbico de Sarle (Dallas, 2000). En ambos análisis los datos se estandarizaron con media = 0 y varianza = 1. Se realizó un análisis univariado de varianza para conocer el comportamiento agronómico de los grupos, con el modelo estadístico:  $Y_{ijk} = \mu + b_i + g_j + p_{k(j)} + \varepsilon_{ijk}$ , donde *b*, *g*, y *p*, son los efectos de bloque, grupo y anidamiento de poblaciones dentro de grupos, respectivamente, mediante programación en SAS®, versión 6.11 (SAS, 1995).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el análisis de conglomerados las 114 poblaciones se clasificaron en seis grupos. La dispersión de las poblaciones en el plano determinado por los dos primeros componentes principales delimitó los grupos (Figura 1). Estos dos componentes (CP<sub>1</sub>+CP<sub>2</sub>) explicaron 87 % de la variación total; el CP<sub>1</sub> estuvo determinado en mayor grado por la luminosidad, la cromaticidad y la calificación visual del color de los granos y el CP<sub>2</sub> por su tinte (Cuadro 1). Es notoria la dispersión de las poblaciones dentro de cada grupo, lo que indica que existe variación cuantitativa para un mismo color de grano.

Con relación a la brillantez de los granos, expresada por los valores de luminosidad (L), el grupo de poblaciones con grano blanco se caracterizó por tener el valor más alto (50.6), que corresponde al nivel de los grises en la escala de Cook (2000), donde el negro puro tiene un valor de 0 y el blanco puro de 100. De esta variable, las poblaciones de grano amarillo y anaranjado tuvieron idénticos valores (32.1); es decir, presentaron mayor opacidad con respecto a las de grano blanco, mientras que las de grano rojo, azul y púrpura mostraron valores de 19.4, 21.6 y 13.7, respectivamente, es decir, cercanos al negro (L = 0). Los valores de luminosidad y la calificación visual de los granos tuvieron una relación inversa (Cuadro 2), puesto que esta última variable tuvo valores crecientes desde el blanco hasta el color púrpura. Salinas *et al.* (1999) encontraron que para granos azules la luminosidad varió entre 24.6 y 41.0 y para granos rojos entre 13.1 y 37.4. En el presente estudio para los grupos azul y rojo la luminosidad fue de 15 a 27 y de 15 a 23, respectivamente. De acuerdo con el valor del tinte, las poblaciones de granos anaranjados y rojos tuvieron valores angulares que los ubican en el cuadrante rojo-amarillo; es decir, con ángulos menores a 90° (McGuire, 1992; Cook, 2000); los grupos restantes se ubicaron en el cuadrante amarillo-verde, comprendido entre 90° y 180°. Los valores de cromaticidad cercanos a 0 indican tonalidades intensas, y valores mayores (hasta un límite de 60) indican tonalidades tenues; así, los grupos de grano blanco, amarillo y anaranjado presentaron

tonalidades tenues y los grupos púrpura, azul y rojo mostraron tonos intensos (Cuadro 2), resultados consistentes con base en el primer componente principal (Figura 1).

Con la separación de las 114 poblaciones mediante el análisis multivariado de las variables colorimétricas L, C y H en los seis grupos señalados (Figura 1), fue posible conocer la variabilidad entre y dentro de grupos en cuanto al color predominante (H), concentración (C), y brillo (L) del

grano. Esta metodología posibilita detectar poblaciones con mayor contenido de pigmentos de interés nutracéutico, como carotenoides y antocianinas, en las poblaciones de grano amarillo y púrpura de los grupos 1 y 4, respectivamente. En *Ipomoea batatas* (L.) Lam, Yoshinaga *et al.* (1999) mostraron las ventajas de la aplicación de esta metodología al seleccionar poblaciones con alto contenido de antocianinas relacionado con el color púrpura brillante de la pasta elaborada con este tubérculo.

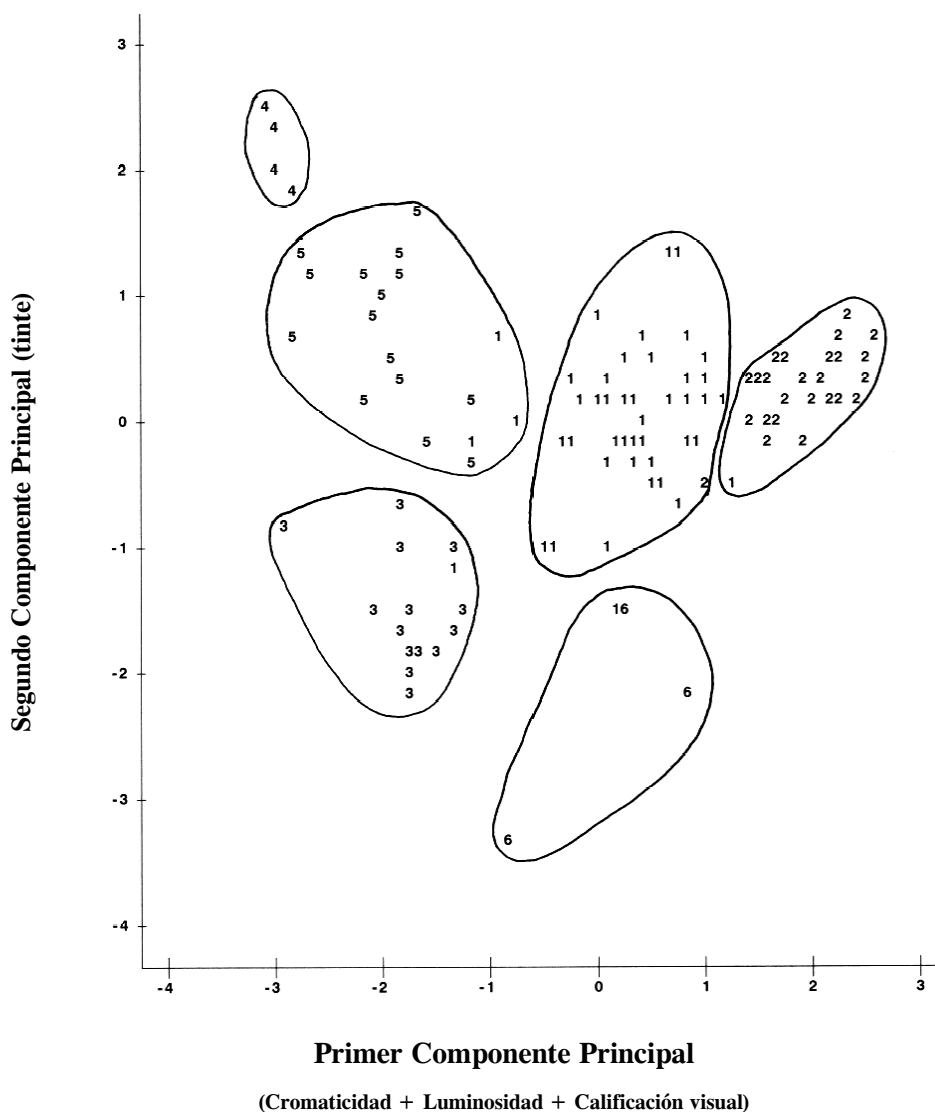


Figura 1. Dispersión de 114 poblaciones de maíz en el plano determinado por los dos primeros componentes principales. Grupos caracterizados por el color de grano: 1 = Amarillo; 2 = Blanco; 3 = Rojo; 4 = Púrpura; 5 = Azul; 6 = Anaranjado. Montecillo, México. 2003.

Cuadro 1. Vectores propios, varianza explicada y valores propios de los dos primeros componentes principales. Montecillo, México. 2003.

	CP <sub>1</sub>	CP <sub>2</sub>
Participación de las variables originales		
Luminosidad	0.572	0.124
Cromaticidad	0.594	0.077
Tinte	-0.116	0.989
Calificación visual	-0.551	0.003
Varianza explicada	0.63	0.24
Valores propios	2.52	0.98

CP<sub>1</sub> y CP<sub>2</sub> = Primero y segundo componentes principales.

Cuadro 2. Variables del color de grano por grupo de poblaciones de maíz, con base en el análisis de conglomerados. Montecillo, México. 2003.

Grupo	No. poblaciones por grupo	V	L	C	H
Blanco	28	2.0 ± 0.2 <sup>†</sup>	50.6 ± 5.1	15.2 ± 1.6	95.4 ± 3.5
Amarillo	44	2.4 ± 0.6	32.1 ± 7.1	10.9 ± 1.4	96.1 ± 8.0
Anaranjado	4	4.0 ± 1.6	27.7 ± 4.0	11.3 ± 2.6	62.5 ± 13.3
Rojo	15	6.0 ± 1.0	19.4 ± 4.5	5.7 ± 1.1	75.7 ± 7.1
Azul	18	5.8 ± 1.4	21.6 ± 6.6	5.8 ± 1.5	108.5 ± 9.7
Púrpura	5	8.3 ± 0.2	13.7 ± 4.8	5.9 ± 1.3	134.0 ± 4.7

<sup>†</sup>Desviación estándar. V = Calificación visual del color; L = Luminosidad; C = Cromaticidad; H = Tinte.

Se ha reportado que dentro de la raza Chalqueño existe diversidad de colores de grano, la cual fue calificada usando una escala visual (Herrera *et al.*, 2004); así, los resultados de este trabajo señalan la posibilidad de analizar esa diversidad con base en un análisis multivariado de los parámetros L, C y H de manera integral, sobre todo si existe el interés de establecer un programa de mejoramiento genético enfocado a la selección de genotipos con mayor contenido de antocianinas y carotenoides, pigmentos de importancia en la nutraceutica (Egesel *et al.*, 2003; Irani *et al.*, 2003).

No hubo diferencias significativas entre los grupos de color ( $P \leq 0.05$ ) en longitud de la mazorca, número de granos por hilera y peso de grano por mazorca (Cuadro 3), pero sí para las demás variables. Las poblaciones del grupo blanco presentaron precocidad intermedia, olote grueso, mazorcas con más hileras y granos pequeños. Los grupos amarillo y rojo mostraron valores estadísticamente similares ( $P \leq 0.05$ ) pero menores al grupo de los blancos; los grupos púrpura y azul, de granos oscuros, se caracterizaron por su floración precoz, mazorca gruesa con olote angosto y granos más grandes; el grupo anaranjado se distinguió por ser precoz, con las mazorcas de menor número de hileras y grano de tamaño medio. Según Mani *et al.* (2000), las variables: DMz, HMz y PGrMz tienen heredabilidad alta (mayor a 55 %), mientras que la correspondiente a la LMz es baja (15 %), lo que permite postular que en poblaciones de los grupos blanco y púrpura existe el potencial genético para mejorar tales caracteres, principalmente las del grupo púrpura que presentaron granos de mayor tamaño.

El grupo blanco se caracterizó por su floración masculina y femenina intermedias (81 y 86 d, respectivamente); en contraste, el grupo de granos azules presentó floración precoz (74 y 78 d). La precocidad es una característica ligada a las condiciones climáticas locales de donde provienen las poblaciones estudiadas, y también fue un criterio de selección durante su adaptación a los Valles Altos. Generalmente, la floración masculina y femenina de las poblaciones criollas de grano azul cultivadas en los Valles Altos de la Mesa Central de México, varía entre 104 y 110 d, (Arellano *et al.*, 2003; Herrera *et al.*, 2004). Sin embargo, algunas variedades de grano azul derivadas de la raza Chalqueño florecen entre 80 y 86 d (Antonio *et al.*, 2004).

Cuadro 3. Variables agronómicas de poblaciones de maíz agrupadas con base en el análisis multivariado del color de grano. Montecillo, México. 2003.

GRUPO	DFM	DFF	LMz	DMz	DOI	HMz	GrH	LGr	AGr	PGrMz
Blanco	81.2 a	86.5 a	11.9 a	4.1 b	2.5 a	15.5 a	24.1 a	0.80 c	0.85 c	83.3 a
Amarillo	75.7 b	80.0 b	12.3 a	4.0 b	2.3 b	14.1 bc	25.0 a	0.88 bc	0.92 b	78.7 a
Anaranjado	74.2 c	78.4 bc	11.1 a	4.0 b	2.3 b	13.3 c	23.8 a	0.89 bc	0.96 ab	78.4 a
Rojo	75.7 b	80.0 b	11.7 a	4.2 ab	2.3 b	14.3 bc	24.2 a	0.96 ab	0.94 ab	82.0 a
Púrpura	75.3 bc	79.2 bc	11.8 a	4.4 a	2.3 b	14.3 bc	23.3 a	1.00 a	0.97 ab	80.0 a
Azul	74.2 c	78.0 c	12.0 a	4.3 ab	2.3 b	13.7 bc	23.4 a	0.97 ab	1.00 a	79.4 a
DSH	1.2	1.6	1.16	0.25	0.13	0.88	2.1	0.12	0.06	21.3
CV (%)	2.3	3.0	13.7	8.7	8.0	8.7	12.7	20.0	10.0	12.0

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05). DSH = Diferencia significativa honesta; CV = Coeficiente de variación. DFM = Días a floración masculina; DFF = Días a floración femenina; LMz = Longitud de mazorca; DFM y DFF = Días a floración masculina y femenina; LMz y DMz = Longitud de diámetro de mazorca; DOI = Diámetro de olote; HMz = Número de hileras; GrH y LGr = Número y longitud de granos por hileras; AGr = Ancho de grano; PGr Mz = Peso de grano por mazorca.

### CONCLUSIONES

Los parámetros obtenidos con el colorímetro (luminosidad, tinte y cromaticidad) y su análisis multivariado, permitieron clasificar las 114 poblaciones en seis grupos de colores de grano: blanco (con 28 poblaciones), amarillo (con 44), anaranjado (con 4), rojo (con 15), azul (con 18) y púrpura (con 5).

Las características agronómicas que variaron entre grupos fueron: días a floración masculina y femenina, número de hileras por mazorca, largo y ancho del grano. Así, las poblaciones pigmentadas fueron precoces, de grano grande, olote angosto y mazorcas anchas. En cambio, las variables longitud de la mazorca, número de granos por hilera y peso de grano por mazorca, no fueron diferentes entre grupos.

La metodología usada permitió conocer la diversidad genética entre poblaciones, al integrar en el análisis el color predominante (H), la concentración (C), y el brillo (L) del grano. Se propone este método para detectar poblaciones con mayor contenido de pigmentos de interés nutracéutico, como carotenoides y antocianinas, de los grupos de amarillos y púrpuras (1 y 4, respectivamente), y que sean fuente de germoplasma en los programas de mejoramiento genético para estos fines.

### BIBLIOGRAFÍA

Antonio M M, J L Arellano V, G García 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.

Arellano V J L, C Tut C, A María R, Y Salinas M, O R Taboada G (2003) Maíz azul de los Valles Altos de México. I. Rendimiento de grano y caracteres agronómicos. Rev. Fitotec. Mex. 26:101-107.

Cook R (2000) A Guide to Understanding Color Communication. Grandville, MI, USA. 28 p.

Cross H Z, W L Alexander (1984) Effects of parents and planting dates on *R-1* expression in maize. Euphytica 33:577-582.

Dallas E J (2000) Métodos Multivariados Aplicados al Análisis de Datos. International Thompson Editores. México, D. F. 566 p.

Egesel C O, J C Wong, R J Lambert, T R Rocheford (2003) Combining ability of maize inbreds for carotenoids and tocopherols. Crop Sci. 43:818-823.

Herrera C B E, F Castillo G, J J Sánchez G, J M Hernández C, R A Ortega P, M M Goodman (2004) Diversidad del maíz Chalqueño. Agrociencia 38:191-206.

Irani N G, M Hernández J, E Grotewold (2003) Regulation of anthocyanin pigmentation. Rec. Adv. Phytochem. 37:59-78.

Mani V P, N P Gupta, G S Bisht, R Singh (2000) Genetic variance and heritability of some ear traits in prolific maize (*Zea mays* L.). Crop Res. 20:217-220.

McGuire R G (1992) Reporting objective color measurements. Hort. Sci. 27:1254-1255.

Salinas M Y, M Soto H, F Martínez B, V González H, R Ortega P (1999) Análisis de antocianinas en maíces de grano azul y rojo provenientes de cuatro razas. Rev. Fitotec. Mex. 22:161-174.

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.

Santacruz V A, M P Widrlechner, K E Ziegler, R J Salvador, M J Millard, P K Bretting (2004) Phylogenetic relationships among North American popcorns and their evolutionary links to Mexican and South American popcorns. Crop Sci. 44:1456-1467.

Sánchez G J J, M M Goodman, C W Stuber (2000) Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of México. Econ. Bot. 54:43-59.

SAS Institute Inc. (1995) SAS Language and Procedure: Usage, Version 6. SAS Institute, Cary, NC, USA.

Yoshinaga M, O Yamakawa, M Nakatani (1999) Genotypic diversity of anthocyanin content and composition in purple-fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam. Breed. Sci. 49: 43-47.