



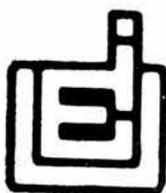
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
"IZTACALA"

B0735/90
E.1

**CULTIVO *in vitro* DE INFLORESCENCIAS FEMENINAS
DE MAIZ (*Zea mays*, L.): ESTUDIOS
PRELIMINARES**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A :
SALVADOR VAZQUEZ VEGA



MEXICO, D. F.

1990

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTA TESIS FUE REALIZADA POR **SALVADOR VAZQUEZ VEGA** EN EL LABORATORIO DE BIOTECNOLOGIA DEL CENTRO DE GENETICA DEL COLEGIO DE POSTGRADUADOS BAJO LA DIRECCION DE LA DRA. MARIA CRISTINA GUADALUPE LOPEZ PERALTA Y DEL DR. VICTOR A. GONZALEZ HERNANDEZ, ACEPTADO COMO REQUISITO PARA LA OBTENCION DEL GRADO DE:

B I O L O G O

ASESOR EXTERNO (CP) DRA. MARIA CRISTINA GUADALUPE LOPEZ PERALTA PROFESOR INVESTIGADOR Y RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE BIOTECNOLOGIA -- DEL CENTRO DE GENETICA DEL COLEGIO DE POSTGRADUADOS, MONTECILLO ESTADO DE MEXICO, 56230.

A mis padres:

Salvador Vázquez H.

Juana Vega L.

Por todo el cariño y ayuda que
me han dado.

A mis hermanos :

Irma Vázquez V.

Victor Vázquez V. y

Ma. Eugenia Vázquez V.

Por ser parte importante
en mi vida.

A mis amigos :

Blanca Casas C.

Patricia Zavala G.

Alejandro Martagón F.

Jorge Vilchis A.

Fernando Navarro M.

y

a todos aquellos que he omitido
su nombre por compartir experiencias
conmigo, sin haberlo pedido.

Con especial agradecimiento a las siguientes personas:

Lic. Arturo Mansilla O., Secretario Particular del Vocal
Ejecutivo de la Comisión Coordinadora para el Desarrollo -
Rural del Distrito Federal, D.D.F., por todas las facilida
des otorgadas.

José Luis Moreno M., Dibujante de la Secretaría de Educa- -
ción Pública, por la elaboración de las figuras.

CONTENIDO

	PAG.
LISTA DE ABREVIATURAS	i
LISTA DE FIGURAS	ii
LISTA DE CUADROS	vii
RESUMEN	xi
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION DE LITERATURA	3
III. MATERIALES Y METODOS	21
IV. RESULTADOS	38
V. DISCUSION	87
VI. CONCLUSIONES	93
VII. BIBLIOGRAFIA	95
VIII. APENDICE	100

LISTA DE ABREVIATURAS

- 1.- AIA ACIDO INDOL - 3 - ACETICO
- 2.- BAP 6 BENCIL AMINOPURINA
- 3.- AG₃ ACIDO GIBERELICO 3

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		PAGINA
1	Tres tipos de disección realizados para la obtención de las inflorescencias femeninas de maíz.	22
2	Condiciones físicas del medio de cultivo: Sólido (S); Líquido con soporte (Lc/s) y Líquido sin soporte (Ls/s). Se sirvieron 10 ml., de medio, depositando el explante dentro del medio, con o sin tallo y con o sin brácteas, dependiendo del experimento en cuestión.	24
3	Explantos desinfectados en frascos con agua estéril, separados por número de hojas liguladas, (HL) y posición (1a., 2a., y 3a.) en sentido apical - basal.	26
4	Equipo utilizado para la siembra.	29
5	Etapas de desarrollo de las inflorescencias femeninas de maíz tomadas de Bonnett (1983) y adaptadas a una escala decimal por V.A. González H.: - pr: Profilo; Yv.: Yema vegetativa; pe: Primordios de espiguillas; pf: Primordios de flósculos; g: Primordios de glumas; o: Primordio del ovario; an: Primordios de anteras; co: Primordio del carpelo del ovario; c: Carpelo; ce: Canal del estilo; pe: Primordio del estilo; e: Estilo; p est: primordios de estigmas; est: Estigmas; FL: Flósculo superior; F2: Flósculo inferior; b: Brácteas.	36
6	Porcentajes promedio de oxidación por condición física y posición: S: Sólido; L c/s; Líquido con soporte; Ls/s; Líquido sin soporte.	41
7	Porcentajes promedio de oxidación por posición en sentido apical - basal.	41
8	Máximas Ganancias (MG) en desarrollo floral de jilotes de las tres primeras posiciones cultivados en medio sólido.	41
9	Jilote cultivado en medio sólido de la primera po	45

sición en **BA**(5 mgL^{-1}) de plantas con 12 hojas liguladas a los 30 días de cultivo in vitro. Etapa de desarrollo-**4I(F+G)**, los primordios de flósculos pueden reconocerse y en la base hay formación de callo y ensanchamiento.

- | | | |
|----|---|----|
| 10 | Jilote en medio líquido con soporte de posición 1 en BA-AIA ($5-0.1 \text{ mgL}^{-1}$) de plantas con 12 hojas liguladas a -- los 30 días de cultivo <u>in vitro</u> . Etapa de desarrollo 4I-(F+G) .Arqueamiento general del explante, formación de <u>ca</u> llo en la base y en algunos primordios de flósculos. | 46 |
| 11 | Jilote cultivado en medio líquido sin soporte de tercera posición en AIA (5 mgL^{-1}) de 12 hojas liguladas a los 30 - días de cultivo <u>in vitro</u> . Etapa de desarrollo 3 IPE . Deformación muy notoria del explante, con arqueamiento-basal y alargamiento de los primordios de espiguillas, - lo que impide reconocer la etapa de desarrollo. | 47 |
| 12 | Máximas Ganancias (MG) en desarrollo floral de jilotes- de las tres posiciones cultivadas en medio líquido con - soporte. (1: control; 2: BA: 3: AIA 4: BA-AIA. (*): In - vivo). | 49 |
| 13 | Máximas Ganancias (MG) en desarrollo floral de jilotes-- de las tres posiciones cultivadas en medio líquido sin- soporte. (1: control; 2: BA; 3: AIA; 4: BA-AIA.(*): In - vivo). | 49 |
| 14 | Porcentaje promedio de oxidación por condición física y posición. S: Sólido;Lc/s: Líquido con soporte. | 54 |
| 15 | Porcentaje promedio de oxidación por estado físico. S: - sólido; Lc/s: Líquido con soporte. | 54 |

FIGURA		PAGINA
16	Máximas Ganancias (MG) de desarrollo floral en jilotes - de las posiciones 1 y 2 cultivados en dos medios de cultivo. 1) C; control: 2) BA; 3) AIA: 4) BA-AIA.	56
17	Jilote cultivado en medio sólido de 2a. posición, en BA-a(5 mgL ⁻¹)de plantas con 15 hojas liguladas a 30 días -- del cultivo <u>in vitro</u> . Etapa 5 IA. la mitad inferior del-explante con deformidades y la mitad superior probablemente en la etapa 4I (F+G).	57
18	Jilote cultivado en medio líquido con soporte de la primer posición en(5 mgL ⁻¹)de AIA, de plantas con 16 hojas-liguladas, a 30 días de la siembra <u>in vitro</u> . Etapa poco reconocible por deformación, presencia de callo y arquea-miento.	58
19	Tasas de crecimiento diario por condición física del medio de cultivo y por posición (T.C.D.). S. Sólido:Lc/s:-Líquido con soporte. Expresado en micrómetros por día-- (m/día), datos tomados entre 10 y 30 días.	61
20	Porcentaje promedio de oxidación por condición física y-posición. S: sólido; Lc/s: Líquido con soporte. Datos to-mados entre 10 y 30 días.	63
21	Porcentaje promedio de oxidación por condición física--del medio de cultivo. Datos tomados entre 10 y 30 días. S: sólido; Lc/s: Líquido con soporte.	63
22	Máximas Ganancias (MG) de las etapas de desarrollo en -- las dos posiciones en medio sólido. 1)Control; 2) BA; 3) AIA; 4) AG ₃ ; 5) BA-AG ₃ 7) AIA-AG ₃ , 8) BA-AIA-AG ₃ . Datos-tomados entre 10 y 30 días.	66

FIGURAS		PAGINAS
23	Máximas Ganancias (MG) de desarrollo en las inflorescencias de las dos primeras posiciones en medio Líquido con soporte. 1) Control; 2) BA; - 3) AIA; 4) AG ₃ ; 5) BA-AIA; 6) BA-AG ₃ ; 7) AIA-AG ₃ ; 8) BA-AIA-AG ₃ . Datos tomados entre 10 y 30 días.	66
24	Porcentajes promedio de oxidación en medio sólido.	70
25	Máximas Ganancias (MG) de las etapas de desarrollo en medio sólido. 1) Control; 2) BA; 3)AG ₃ ; 4) AIA-AG ₃ ; 5) BA-AG ₃ ; 6) BA-AIA-AG ₃ .	70
26	Tasas de crecimiento diario, expresadas en micrómetros por día ($\mu\text{m}/\text{día}$), por posición. Datos tomados entre 10 y 20 días cultivados en medio sólido. 1) Control; 2) BA; 3) AG ₃ ; 4)AIA-AG ₃ ; - 5) BA-AG ₃ ; 6) BA-AIA-AG ₃ .	74
27	Porcentajes promedio de oxidación en medio sólido (S) y líquido con soporte (Lc/s), para ambas posiciones entre 5 y 20 días.	76
28	Máximas Ganancias (MG) del desarrollo en los diferentes tratamientos hormonales en ambas posiciones y para los dos estados físicos entre 5 y 20 días. 1) Control; 2) BA; 3) AIA-AG ₃ .	76
29	Tasas de crecimiento diario expresadas en micrómetros por día, por tratamiento hormonal, posición y estado físico del medio de cultivo. 1)Control; 2) BA; 3) AIA-AG ₃ .	80
30	Máximas Ganancias (MG) de desarrollo en inflorescencias femeninas de segunda y primer posición -	84

en medio sólido entre 5 y 20 días.

1) Control; 2) BA; 3) AIA-AG₃.

- 31 Tasas de crecimiento diario (μ m/día), expresado en micrómetros por día, por tratamiento y posición en medio sólido - datos tomados entre 5 y 20 días. 84
- 1) Control; 2) BA; 3) AIA-AG₃.

LISTA DE CUADROS

CUADRO		PAGINA
1	Etapas de desarrollo de las inflorescencias femeninas de maíz y sus claves según la escala - de V.A. González H. (adaptado de Rocha A.1980).	12
2	Tratamientos hormonales utilizados en la siembra <u>in vitro</u> de inflorescencias femeninas de - maíz (experimentos 1 y 2).	27
3	Tratamientos hormonales utilizados en la siembra <u>in vitro</u> de inflorescencias femeninas de - maíz (Experimento 3).	31
4	Tratamientos hormonales utilizados en la siembra <u>in vitro</u> de inflorescencias femeninas de - maíz (Experimentos 4a y 4b).	33
5	Tratamientos hormonales utilizados en la siembra <u>in vitro</u> de inflorescencias femeninas de - maíz en medio sólido (Experimento 5).	34
6	Porcentajes promedio de oxidación en inflorescencias femeninas de maíz de la 1a., 2a., y - 3a., posición en sentido <u>apical-basal</u> cultivadas en tres condiciones físicas. Datos tomados entre los 20 y 40 días de la siembra <u>in vitro</u> .	40
7	Etapas de desarrollo de las inflorescencias Femeninas de maíz sembradas <u>in vitro</u> en medio sólido, de las tres primeras posiciones en sentido <u>apical-basal</u> . Datos tomados entre 20 y - 40 días de siembra.	42
8	Etapas de desarrollo de las inflorescencias - femeninas de maíz sembradas en medio líquido con soporte <u>in vitro</u> , de las tres primeras posiciones en <u>sentido apical-basal</u> . Datos tomados entre 20 y 40 días.	43

CUADRO		PAGINA
9	Etapas de desarrollo de las inflorescencias femeninas de maíz sembradas en medio líquido sin soporte <u>in vitro</u> en las tres primeras posiciones en sentido apical-basal . Datos tomados entre 20 y 40 días.	44
10	Tasas de crecimiento diario (μ m/día) de las inflorescencias de maíz sembradas <u>in vitro</u> en las tres primeras posiciones en sentido apical-basal . Datos tomados entre los 20 y 40 días.	51
11	Porcentajes promedio de oxidación de inflorescencias femeninas de maíz en las dos primeras posiciones en sentido apical-basal sembradas <u>in vitro</u> en dos condiciones físicas del medio de cultivo. Datos tomados entre 10 y 30 días.	53
12	Etapas de desarrollo de las inflorescencias femeninas de maíz sembradas en medio sólido con soporte <u>in vitro</u> de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal . Datos tomados entre los 10 y 30 días.	55
13	Tasas de crecimiento diario (μ m/día) de las inflorescencias femeninas de maíz sembradas <u>in vitro</u> en las dos primeras posiciones en sentido apical-basal . Datos tomados entre los 10 y 30 días.	60
14	Porcentajes promedio de oxidación de inflorescencias femeninas de maíz de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal cultivadas <u>in vitro</u> en medio sólido y líquido con soporte. Datos tomados entre los 10 y 30 días.	62
15	Etapas de desarrollo de inflorescencias femeninas de - - maíz cultivadas <u>in vitro</u> en medio sólido y líquido con soporte de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal . Datos tomados entre los 10 y 30 días.	65
16	Tasas de crecimiento diario (μ m/día) de las dos primeras inflorescencias femeninas de maíz en sentido apical-	68

	basal cultivadas <u>in vitro</u> . Datos tomados entre 10 y 30 días.	
17	Porcentajes promedio de oxidación en inflorescencias femeninas de maíz de las dos primeras posiciones en sentido -- apical-basal en medio sólido cultivadas <u>in vitro</u> . Datos tomados entre 10 y 20 días.	69
18	Determinación de la etapa de desarrollo de inflorescencias femeninas de maíz, de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal cultivadas <u>in vitro</u> en medio sólido. Datos tomados entre 10 y 20 días.	71
19	Tasas de crecimiento diario ($\mu\text{m}/\text{día}$) de las inflorescencias femeninas de maíz sembradas <u>in vitro</u> en medio sólido de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal . Datos tomados entre 10 y 20 días.	73
20	Porcentajes promedio de oxidación de inflorescencias femeninas de maíz de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal en medio sólido y líquido con soporte cultivadas <u>in vitro</u> . Datos tomados entre 5 y 20 días.	75
21	Etapa de desarrollo de inflorescencias femeninas cultivadas- <u>in vitro</u> en medio sólido y líquido con soporte de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal . Datos tomados entre los 5 y 20 días.	78
22	Tasas de crecimiento diario ($\mu\text{m}/\text{día}$) de las inflorescencias femeninas de maíz de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal cultivadas en medio sólido y líquido con soporte. Datos tomados entre 5 y 20 días.	79
23	Porcentajes promedio de oxidación en inflorescencias femeninas de maíz en las dos primeras posiciones en sentido apical-basal cultivadas <u>in vitro</u> en medio sólido. Datos tomados entre los 5 y 20 días.	82

CUADRO

PAGINA

24	Etapa de desarrollo de inflorescencias femeninas de maíz, cultivadas <u>in vitro</u> en medio sólido de las dos primeras posiciones en sentido <u>apical-basal</u> . Datos tomados entre 5 y 20 días	83
25	Tasas de crecimiento diario (μ m/día) de las dos primeras inflorescencias femeninas de maíz en sentido <u>apical-basal in vitro</u> en medio sólido. Datos tomados entre 5 y 20 días.	86

R E S U M E N

La planta de maíz posee un gran potencial para elevar el rendimiento de grano, ya que en ella existen de 6 a 8 yemas, capaces de transformarse en primordios de mazorca, lo cual sin duda alguna podría permitir elevar la producción de maíz con ventajosas consecuencias socio-económicas. No obstante las yemas axilares que se encuentran por debajo de la tercera yema, en posición **apical - basal** pronto degeneran y finalmente en la mayoría de los maíces comerciales, sólo una o dos yemas llegan a su maduración.

Por otro lado se ha visto que mediante el empleo de la técnica del cultivo **in vitro** de tejidos vegetales, es posible entender procesos y obtener señalamientos de lo que ocurre en plantas in tactas, gracias a la capacidad de controlar los requerimientos hormonales, nutricionales y ambientales de cualquier tipo de explante sin la influencia del resto de la planta.

La presente investigación tuvo como finalidad emplear la técnica del cultivo **in vitro** de tejidos vegetales para analizar el crecimiento y desarrollo de las inflorescencias femeninas inmaduras de maíz (jilotes) en función de su posición en la planta y en respuesta a tres condiciones físicas del medio de cultivo y a diferentes combinaciones y concentraciones hormonales.

Se determinó que las dos primeras posiciones en sentido **apical-basal** de los jilotes de maíz respondieron mejor a las condiciones **in vitro** y además que el medio de cultivo sólido fue el que permitió un crecimiento y desarrollo más cercano al normal. Sin embargo, las diversas combinaciones y concentraciones hormonales evaluadas no fueron óptimas para el crecimiento y desarrollo **in vitro** de las inflorescencias femeninas de maíz.

I. INTRODUCCION

En México se tiene la necesidad de incrementar la producción de alimentos, por lo que el estudio e investigación en especies vegetales alimenticias bajo condiciones determinadas -- constituye una vía de solución a éste problema.

La planta de maíz posee un gran potencial para elevar el rendimiento de grano, ya que en ella existen de 6 a 8 yemas capaces de transformarse en primordios de mazorca, lo cual sin duda alguna podría elevar la producción de maíz con ventajosas consecuencias socio-económicas (C.Mendoza y V.A. González comunicación personal *). No obstante, las yemas axilares que se encuentran por debajo de la tercer yema en posición apical-basal pronto degeneran y finalmente en la mayoría de los maíces comerciales sólo una o dos yemas llegan a su maduración. No tan sólo éste fenómeno se ha observado en el maíz, también se ha podido ver en otros cultivos igualmente importantes, como el frijol, donde muchos de los botones-florales no son capaces de llegar a su madurez (16).

Se han elaborado diferentes hipótesis en relación al mecanismo que opera en la transformación de yemas vegetativas a reproductivas. Recientemente se ha trabajado el concepto de - "Modelo de Control Multifactorial de la Floración" , donde se propone que varios factores están involucrados en el control de la iniciación de la floración como promotores o inhibidores. Así, éste evento sucede sólo cuando todos los factores están presentes en el ápice en concentraciones y en el momento adecuado; tales factores involucran tanto la actividad de hormonas como la de fotosintatos (8).

Por otro lado se ha visto que mediante el empleo de la técnica del cultivo in vitro de tejidos vegetales, es posible entender estos procesos y obtener señalamientos de lo que ocurre en plantas intactas, gracias a la capacidad de controlar los requerimientos hormonales, nutricionales y ambientales-- de cualquier tipo de explante sin la influencia del resto de la planta.

Por tales razones, para el estudio de los mecanismos que hacen posible la transformación de primordios vegetativos en reproductivos del maíz, así como de los factores que regulan su posterior crecimiento y desarrollo, se planteo este trabajo en el que con la técnica del cultivo de tejidos vegetales se analiza la respuesta de la posición de las inflorescencias

* Investigadora Docente y Profesor Investigador del Centro de Genética, C.P. Montecillo, México 56230.

cias femeninas inmaduras de maíz (jilotes) en sentido **apical-basal** en tres condiciones físicas del medio de cultivo y a diversas combinaciones y concentraciones -- hormonales.

II. REVISION DE LITERATURA.

1. Generalidades del maíz (Zea mays, L.)

El maíz ocupa el tercer lugar en el mundo después del trigo y del arroz en importancia como fuente de alimentación humana y animal; durante 1978 a 1980 cubrió 128 millones de hectáreas cultivadas. Esta planta anual es sembrada generalmente de 30 a 55º de Latitud en regiones con por lo menos de -120 a 128 días libres de heladas y temperaturas de 21 a 27º C. (13).

En México es un elemento preponderante en la vida social y económica, ya que es una de las más importantes fuentes de alimentación. En relación a su gama de varación se han descrito más de 30 razas, superando con ésto a cualquier otra región geográfica por su riqueza y diversidad (29).

1.1. Origen y dispersión

Antes de que la planta de maíz fuera cultivada, sus granos posiblemente eran más pequeños, aunque lo suficientemente grandes y pesados para que no fueran dispersados por el viento, por lo que en su esparcimiento debieron intervenir animales, posiblemente carnívoros que a su vez se alimentaban de algunas especies que consumían maíz y que al emigrar depositaban en otras regiones, junto con las heces, los granos de maíz no digeridos. En el Continente Americano el inicio de su cultivo probablemente coincida con el de la era cristiana. Hasta antes de 1492 la planta de maíz era desconocida como alimento en el Viejo Mundo, pero en el Nuevo Mundo parecía ser una planta importante en la alimentación de las civilizaciones precolombinas, como la Inca en Sudamérica, la Maya y Azteca de Mesoamérica. Para el momento en que Colón arribó a América, el maíz había empezado a cultivarse ampliamente por los indios norteamericanos (15,29).

En los inicios de la agricultura en América, y al descubrir el hombre el maíz para su alimentación, lo empezó a culti-

var y seleccionar acelerándose su dispersión. Los comerciantes llevaban el maíz a diversas regiones y las tribus emigraban llevándolo consigo, difundiéndose su cultivo primero en Mesoamérica y después en Sudamérica. En el México antiguo el maíz fue sustento, religión y arte. Las evidencias arqueológicas demuestran que existen dos posibles lugares de origen, estos son: a) Los Valles altos del Perú, Ecuador y Bolivia, y b) La región del Valle de Tehuacan en México y la América Central. En ambas áreas se han descubierto muchos tipos de maíz (15,29).

Sobre el origen del maíz hay cuatro teorías principales y otras -- teorías llamadas teorías menores, siendo éstas: a) El maíz se originó de un maíz con cápsulas, una forma en la cual los granos están encerrados individualmente en brácteas florales, como los cereales y la mayoría de los pastos; b) El maíz se originó del Teosintle -- por selección directa, por hibridaciones o por hibridación del Teosintle con un pasto desconocido y ahora extinto; c) El maíz, el Tripsacum y el Teosintle han descendido por líneas independientes directamente de un ancestro común y d) La teoría tripartita de Manglesford y Reeves de 1939, que dice que el maíz cultivado se originó de un maíz con cápsulas, o bien, que el Teosintle es derivado de un híbrido del maíz y Tripsacum, y por último la que menciona que la mayoría de las variedades modernas son el producto de una mezcla de Teosintle con Tripsacum o con ambas (29).

Existe otra teoría en la que se dice que el Teosintle ha jugado un papel principal en el origen del maíz, que se inició con los trabajos de Ascherson en 1875 quien mostró convincentemente que es la especie más cercana al maíz.

Consideró que la espiga femenina del maíz es el resultado de una fusión de las ramas laterales con la espiga central y supuso que la fusión de varias espigas de la inflorescencia pistilada podía dar como resultado una estructura similar a la espiga masculina -- del maíz. Actualmente no hay evidencia real de que la espiga sea producto de una fusión (15,30).

Durante la segunda reunión de la "SOMEFI" el Dr. Miranda Colín presentó su punto de vista en cuanto al origen y evolución del maíz, -- siendo actualmente esta la teoría más acertada. El llegó a las si-

güentes conclusiones:

" De las cuatro hipótesis descritas la que se ajusta más al origen del maíz es la primera, o sea que el maíz -- proviene del Teosintle. La razón de esto es que ambas plantas tienen 10 cromosomas en sus células gaméticas. Los cromosomas son muy semejantes en longitud, posición del centrómero y se asocian normalmente en la pro fase meiótica. La posición de los nudos cromosómicos - en algunos Teosintles es terminal y en otros es interca laria, al igual que en el maíz; sin embargo estas diferencias pueden atribuirse a la migración, a la mutación a la recombinación genética y a la selección. La hibri dación entre maíz y Teosintle en forma natural es posible y los híbridos son altamente fértiles. Desde el -- punto de vista morfológico el maíz y el Teosintle son - también muy parecidos, las diferencias que se observan - en algunos órganos en relación a los del maíz cultivado se debe a los efectos de la selección artificial. Las - defensas naturales del Teosintle han sido substituidas - por otros caracteres de mayor importancia económica bajo domesticación. De ahí que el maíz cultivado sea inca paz de subsistir sin el cuidado del hombre. Por otro la do las semejanzas morfológicas que se observan en el -- Teosintle y en algunas especies del género Tripsacum se deben a que dichas especies se han desarrollado en la - misma área ecológica bajo los mismos factores de selección natural. La razón para considerar al Teosintle -- como el ancestro del maíz es la siguiente: En México - el maíz ha ocupado el primer lugar de la alimentación, - humana desde tiempos prehistóricos hasta nuestros días - y el segundo lugar ha correspondido al frijol (Phaseolus vulgaris L.). Si observamos la distribución geográfica - del Teosintle (maíz silvestre) y la distribución de las variedades silvestres del frijol común, notamos que ambas especies ocupan la misma área, esto significa que - el hombre las encontró creciendo juntas y las empezó a - domesticar al mismo tiempo. Prueba adicional son los --

restos arqueológicos del maíz y frijol encontrados en las excavaciones realizadas en el Valle de Tehuacan, Pue., cuyas antigüedades se remontan a 6 600 y 7 000 años respectivamente. En las áreas donde el maíz y el Teosintle crecen juntos existen un gran número de híbridos naturales cuyas características morfológicas no permiten establecer límites entre las dos especies. Si a esto agregamos que no existen mecanismos de aislamiento reproductivo, podemos concluir que tanto el maíz como el Teosintle pertenece a la misma especie (Zea mays L.) -- (19) ".

1.2. Usos del maíz.

En México el maíz más antiguo probablemente sea el tunicado o perlado; no obstante en algunas épocas hubo influencia de razas locales, así como la influencia de razas exóticas del Sur que se cruzaron con las razas locales, así como la influencia de plasma germinal del Teosintle incrementando la diversidad de caracteres y tipos de maíz. Debido a esta diversidad se cuenta con tipos de maíz cuyas características morfológicas y composición química determinan ampliamente diversos usos, como: a) El maíz sacharata o maíz azucarado, que posee carióside dulce debido a que el almidón se ha transformado parcialmente en dextrina y azúcares, por esta característica se cosecha en estado tierno para consumirse como verdura, para hacer pinole, harinas dulces, obtención de mieles y bebidas alcohólicas; b) Maíz indurata o cristalino que por la consistencia vitrea o cristalina del endospermo al ser molido conserva en diminutos granos su consistencia y no se pulveriza, es la variedad más utilizada para hacer tortillas, tamales, atoles y otros alimentos mexicanos (29).

2. Descripción botánica.

Perteneiente a la familia de las Gramíneas, es una planta -- anual, herbácea y monoica, de altura variable. La raíz es fibrosa y de los nudos inferiores del tallo surgen raíces adven

ticias que proporcionan soporte a la planta, o bien pueden desarrollar tallos similares al principal, conocidos como macollos o hijos. El tallo es en general erecto, robusto y no ramificado.

De cada nudo sale una hoja con limbo ancho, envainadora, con nervadura prominente y paralela; la hoja es curva, lanceliforme y pubescente (6, 13, 14 y 29).

El género Zea comprende tanto el maíz como el Teosintle, que representan a plantas robustas, de muchas formas. Las diferencias más acusadas se dan en el fruto de ambas especies. En el Teosintle éste consiste en una espiga de grano dístico, con semillas triangulares bastante más pequeñas que las de los maíces actualmente cultivados y que maduran a lo largo de un prolongado período, por lo que no tiene aprovechamiento económico como cosecha de grano. En el maíz los granos nacen alineados en varias hileras sobre un raquis cilíndrico grueso y blanco. En el Teosintle el eje central de la espiga es duro y frágil.

Además existe una importante diferencia funcional en el mecanismo de dispersión de las semillas de ambas especies. Las semillas del Teosintle se esparcen con facilidad al romperse la espiga en segmentos de raquis portadores de los granos, esto permite que el Teosintle se conserve en estado natural sin necesidad de cuidados por parte del hombre. El maíz, no posee esta facilidad natural de dispersión de sus semillas, por lo que no podría subsistir en estado silvestre. El maíz, también se puede distinguir de Euchlaena (Teosintle) en que la espiga es de varias hileras con un raquis continuo o mazorca de granos aplanados, cuyas hileras representan a las espigas pistiladas. Potencialmente cada nudo puede llevar a una o más espigas sobre el pedúnculo; algunas veces las florecillas pistiladas pueden ser originadas sobre una inflorescencia estaminada (6, 7, 13 y 14).

2.1. Morfología floral.

El maíz es típicamente una planta monoica, con una inflorescencia masculina o espiga que es terminal, situada en el ápice del tallo e inflorescencias femeninas altamente compactadas (mazorcas) que se originan en las ramificaciones de nudos. Estas inflorescencias en etapas iniciales de su desarrollo son bisexuales(6,15).

Durante la ontogenia de la planta ocurren procesos más o menos secuenciales, como son:(producción de fundamentos de hoja y yemas axilares, donde los entrenudos del tallo permanecen cortos. Posteriormente existe una elongación de los entrenudos del tallo, se diferencia y desarrolla la espiga masculina y sus partes, mientras que las yemas axilares atraviesan sus distintos estadios de desarrollo; su maduración total queda completa con la dehiscencia de las anteras (6, 13 y 14).

Como anteriormente se mencionó, los primeros estadios de desarrollo de ambas inflorescencias son similares, pero los estilos de las flores estaminadas y los estambres de las flores pistiladas usualmente permanecen rudimentarios(12 37).

En un concepto general; en el estado reproductivo se llevan a cabo una serie de modificaciones estructurales que comprende la mayoría de los procesos interrelacionados de naturaleza química, fisiológica y morfológica, donde los ápices florales reemplazan a los vegetativos, existiendo de igual forma cambios histológicos. Todos estos cambios se inician antes de que se presenten señales de floración, y que por otra parte son de naturaleza irreversible (1,23).

Las modificaciones estructurales que ocurren en el meristemo durante la transición pueden ser reconocidas como: a) Modificación en el crecimiento del vástago, cuando las flores nacen en inflorescencias ramificadas laterales o axilares, una producción acelerada de brotes axilares es una de las primeras indicaciones de la floración, b) Durante el crecimiento vegetativo el crecimiento foliar se enfatiza, y c) Durante el estado reproductivo los brotes axilares aparecen primero y crecen más vigorosos que los primordios de brácteas.

La segunda característica que generalmente revela el inicio del estado reproductivo en la elongación de los entrenudos; esto particularmente en plantas donde el eje no se alarga durante el estado vegetativo como en muchos pastos. Por último hay que hacer notar que la inducción floral no representa un cambio repentino en la condición del vástago, ya que es un proceso con muchos cambios intermedios donde se alteran morfológicamente otras partes de la planta, incluyendo su fisiología (6, 11).

2.1.1. Inflorescencias masculina: Diferenciación y desarrollo.

Normalmente cuando la planta tiene de 8 a 10 yemas liguladas el vástago de la espiga y de la mazorca -- han comenzado a formarse (6). El desarrollo de la inflorescencia masculina se inicia con el crecimiento del eje central de la espiga.

Posteriormente entra en una etapa de transición donde se inicia el desarrollo de los primordios de ramificaciones. La diferenciación de la espiga generalmente ocurre en sucesión acrópeta, en donde los primordios basales se inician primero y los apicales al úl-

timo. Los primordios de la espiga se forman también en una sucesión acrópeta, hasta llegar al ápice del eje principal de la inflorescencia masculina. Cada espiga posee dos espiguillas que por división desigual origina una espiguilla pedicelada (la superior) y otra sésil - - (la inferior). Estas se arreglan en pares y en dos o más hileras en el eje principal de las ramificaciones. Cada espiguilla tiene dos -- flores hermafroditas, una superior y otra inferior, el gineceo en ambas flores degenera en su desarrollo, convirtiéndose en flor imperfecta - - (6, 9, 13 y 14).

2.1.2. Inflorescencia femenina: Diferenciación y desarrollo.

Las yemas axilares se desarrollan en una sucesión acrópeta, durante los estadios tempranos son sucesivamente mayores, desde el ápice hacia la - base del tallo. Posteriormente cuando las espigas comienzan a desarro llarse en el orden basípeto el tamaño cambia, de tal forma que la yema- superior es la más grande y las yemas se van haciendo más pequeñas hacia la base del tallo de la planta. La yema superior o las tres primeras yemas toman ese orden de prioridad en su desarrollo, inhibiéndose el de- sarrollo de las demás yemas inferiores, degenerando éstas o bien forman- do raíces adventicias en las más cercanas al suelo. Cada una de las ye mas está encerrada por un profilo que puede ser entero o dividido (6,9,- 13 y 14). En primer término ocurre una elongación del ápice de la ye- ma axilar, después aparecen proyecciones laterales sobre el eje central- que son los primordios de la espiga, de estas proyecciones o primordios- se van a originar los primordios de las espiguillas, que se forman en pa- res por una división desigual, comenzando a diferenciarse primero la por- ción de mayor tamaño; posteriormente se forman las glumas que pueden ver- se como crestas transversales. Las partes reproductivas que se diferen- cian primero son los primordios de los estambres, que posteriormente per- manecen rudimentarios. El pistilo se desarrolla a partir del ápice de - la yema floral ubicada entre los primordios de los estambres comenzando- con el desarrollo de una cresta, que es el carpelo del ovario y que en- cierra parcialmente el extremo de la yema floral; las glumas encierran - al ovario y los estilos se extienden a través de ellas, posteriormente -

los estilos comienzan a bifurcarse, se inician los estigmas que aparecen como primordios de vellocidad en la punta de los estilos, en la floración femenina aparecen los estigmas fuera de las brácteas (Cuadro 1) - (6, 9, 11, 13 y 15).

3. Cultivo In vitro de tejidos vegetales.

2 En México existe la necesidad de incrementar la producción de alimento - para el bienestar de sus habitantes, así como de todo el mundo, por lo que el estudio e investigación de especies vegetales alimenticias bajo condiciones ambientales determinadas constituye una posible solución a este problema. El término cultivo de tejidos vegetales, se refiere al cultivo in vitro de células, tejidos y órganos (20). Siendo una rama importante de la biotecnología se ha visto que se pueden obtener grandes beneficios a corto, mediano y largo plazo con aplicaciones en la agricultura, la industria y la farmacología, así como en otras áreas (16, 17 y 27).

Hasta hace 20 años se le consideraba como un campo muy especializado de la botánica. En la agricultura su impacto se inició con los trabajos de Morel en 1960, al utilizar como explantes los vástagos apicales como medio para la clonación de orquídeas; la explotación inmediata y satisfactoria de las experiencias de Morel sugirió su utilización comercial con los orquideólogos, ocasionando también que se exploraran en otras especies ornamentales y de cultivo con miras a la producción de granos (4, 30 y 38).

Se ha visto además que las técnicas del cultivo de tejidos vegetales - amén de contribuir a la agricultura e industria, son también una herramienta útil para realizar estudios bioquímicos, fisiológicos, anatómicos etc., ya que permiten un mayor control de las condiciones experimentales. (17).

7 Su fundamento se encuentra en el hecho de que toda célula vegetal somática, cualquiera que sea su especialización, desde el momento en que está viva posee un núcleo que es capaz de reproducir las características de la planta de la cual proviene. A esta capacidad de la célula se le ha

Cuadro 1 : ETAPAS DESARROLLO DE LAS INFLORESCENCIAS FEMENINAS DE MAIZ Y SUS CLAVES SEGUN LA ESCALA DE V. A. GONZALEZ H.
(ADAPTADO DE ROCHA A. 1980).

ETAPA	NHL	ABREVIATURAS	DESCRIPCION
1	5-6	Yv.	Yema vegetativa
2	6-8	IFF.	Iniciación floral femenina (Transformación de yema vegetativa en reproductiva).
3	8-10	IPE.	Iniciación de Primordios de Espiguillas en la base del elote.
4	10-12	I(F+G)	Iniciación de pares de hileras de flósculos en la base del elote y primordios de glumas.
5	13	IA.	Iniciación de anteras. (estambres).
6	14	IPIS.	Iniciación de pístilos (Carpelos del Ovario).
7	15-16	IEST.	Iniciación de estílos.
8	17	IBIFE.	Iniciación de bifurcación de estílos.
9	18	IEGM.	Iniciación de estígnos (primordios de vellosidad en la punta de los estílos.)
10	18-19	IFLOR	Inicia la floración femenina (aparecen los estígnos fuera de las brácteas).

NHL : NUMERO DE HOJAS LIGULADAS.

denominado totipotencia y es debido a ésto que el cultivo in vitro tiene tal extensión y se puede decir que hasta su poder **40**).

Las técnicas de cultivo in vitro además de controlar lo mejor posible -- los factores del medio, deben permitir la solución de un cierto número -- de dificultades: a) Mantener al explante con vida, b) Si éste representa una estructura organizada (meristemo, ápice o yema) deben permitirle tener un crecimiento normal y c) Si el explante lo constituyen células -- diferenciadas debe inducir un programa de divisiones celulares. Este -- problema se ha resuelto en forma parcial gracias a la identificación de reguladores de crecimiento vegetal endógenos y sintéticos (**40**).

3.1 Cultivo de meristemas apicales.

Dentro de la diversidad de cultivos in vitro, el cultivo de meristemas -- apicales se ubica dentro de la categoría del cultivo de órganos, empleán -- dose principalmente en estudios morfogenéticos, como son la iniciación -- de hojas e inducción floral; sus aplicaciones directas se utilizan en la agricultura (**38**).

3.1.1. Cultivo de yemas axilares de maíz.

El maíz y el frijol son parte importante en la dieta de los mexicanos, -- situación que justifica el llevar a cabo estudios para conocer mejor la -- forma de aumentar la producción de estos cultivos alimenticios.

En la planta de maíz existe un gran potencial para elevar el rendimiento de grano. En su tallo se ha visto que las yemas axilares en todos los nudos son capaces de transformarse en inflorescencias femeninas o mazorcas, de 5 a 9 yemas aproximadamente -- (**13**) y de 6 a 7 mazorcas por planta (**37**).

Se menciona que éste número de mazorcas puede iniciarse durante la

formación de las espiguillas, sin embargo muchas de las mazorcas que --
 están por debajo de la tercera, del ápice hacia la base, cesan en su -
 crecimiento y desarrollo en muchos de los híbridos comerciales (37).

Se ha visto que esto sucede principalmente al momento de la emergen----
 cia de los estilos, los cuales se desarrollan en la mazorca o mazor----
 cas superiores, pudiendo ser éstas la primera o las dos primeras depen-
 diendo de si son tipos prolíficos o no, así como de si sus estilos pue-
 dan tener el suficiente desarrollo como para ser polinizados y produ---
 cir grano (6, 18, 21, 24 y 41).

No obstante aunque muchas de estas yemas inicialmente vegetativas lle--
 gan a transformarse en reproductivas, su crecimiento y desarrollo es --
 incompleto y por tanto improductivas (18, 39). Es por esto que el maíz
 resulta una planta ideal para estudiar el desarrollo de cada clase de-
 flor por separado(14). Su cultivo in vitro es indispensable para el es-
 tudio de los factores que regulan el desarrollo floral, sin la influen-
 cia de la porción vegetativa de la planta (23).

Potencialmente esta técnica permite la promoción del crecimiento y desa-
 rrollo normal del explante investigando los requerimientos nutriciona-
 les y el papel de los reguladores del crecimiento específicos que sería
 imposible in situ (18, 22).

El cultivo de inflorescencias, en este caso de inflorescencias femeni--
 nas de maíz , puede proveer de señalamientos y aclaraciones de facto--
 res que normalmente están involucrados en la diferenciación de las flo-
 res (5).

Los trabajos científicos que están relacionados con el estudio del maíz
 y en particular sobre el fenómeno de la transformación de yemas vegeta-
 tivas en reproductivas, en un inicio han sido de tipo descriptivo y han
 servido de guía para nuevas investigaciones (23).

El sistema de vástagos en los cereales, es un claro ejemplo de dominación
 apical. En cada uno de éstos el transporte polar basípeto de auxinas--
 ha estado implicado como el principal factor de la dominancia apical,--
 por lo que se mantiene una inhibición correlativa y se establece una -
 severa jerarquía en los vástagos de los cereales. Esto parece ser por-
 el suplemento finito de otras hormonas como: Citocininas, giberelinas-
 y auxinas, que realizan la inhibición o promoción por parte del vástago
 principal. Esto hace pensar que el balance hormonal es crítico en
 el patrón de dominancia apical de los vástagos(41).

Los estudios fisiológicos, especialmente los relacionados con reguladores del crecimiento, han aportado evidencias de que éstos parecen controlar el número de mazorcas por tallo. Sin embargo se ha observado bajo condiciones experimentales que la aborción de las mazorcas secundarias y terciarias es debido principalmente al retraso en la emergencia de los estigmas en estas mazorcas en relación con la mazorca principal, y que el proceso de aborción es irreversible a los pocos días de la fecundación (21).

El carácter de prolificidad es un comportamiento regulado bajo un control genético que es posible manejarlo experimentalmente mediante labores culturales, como son la dosis de fertilización (aplicando fertilizante nitrogenado a genotipos semiproflíficos se logra una mayor sincronización en la floración de la primera y segunda mazorcas), de manera que se producen dos mazorcas al momento de la cosecha (21, 24).

Así mismo se hace mención de que el cese en el crecimiento de las mazorcas durante el período de floración puede ser causado por bajas cantidades de irradiación interceptada por la planta. Otra explicación alternativa sugiere que la aborción de las mazorcas puede resultar de una fertilización incompleta, alta densidad de plantas en el cultivo y estrés hídrico. También se sugiere, en otro trabajo, que la aborción de las mazorcas está relacionada con una competencia intra-planta por los fotosintatos durante el período de floración, ocurriendo dicha competencia entre los vástagos de las mazorcas, espiga, tallo y raíces durante el proceso de la floración (37).

Por otro lado, en el maíz el cese en el desarrollo de la mazorca secundaria ha ocurrido a pesar de la sincronización con el desarrollo de la mazorca superior (37).

Existen una serie de estudios experimentales que sugieren que cuando menos en algunas plantas la giberelina AG_3 estimula la floración y que en otras especies se requiere de alguna otra hormona adicional (7).

Desde la aparición de los reguladores del crecimiento, éstos han jugado un papel coordinador en la producción a gran escala de cereales, ya que se ha visto que incrementan el número de granos por plantas o unidad de área disponible para el llenado y maduración del grano (41).

Al probar el efecto de las citocininas en el desarrollo normal de espigas masculinas de maíz, fue posible observar que a una concentración de 10^{-9} a 10^{-8} M de BAP, se inducía al máximo de espigas normales. También fue posible ver que a concentraciones supraóptimas las citocininas indujeron anomalías en las espiguillas, un número de espiguillas -- alargadas mostraron señales de proliferación meristemática, las brácteas se expandieron en su tamaño y fueron más numerosas que lo normal. Frecuentemente las paleas se alargaron semeando estilos y ocasionalmente-- numerosos apéndices, similares a estilos, también se alargaron (23).

Al estudiar la reversión sexual de la espiga masculina de maíz por medio de sustancias giberélicas, se encontró que estas están fuertemente involucradas en el control de la sexualidad del maíz, sugiriendo que altos niveles de AG particularmente los de naturaleza no polar, favorecen la feminización mientras que bajos niveles la masculinización (12, 13).

Otros investigadores encontraron que la zeatina y la 6-Benciladenina -- favorecen el desarrollo del pistilo (23). De la misma forma se observó en otra serie de experimentos, que el desarrollo de los vástagos axilares de maíz in vitro se veía favorecido con la adición de auxina a -- 3 mgL^{-1} , ésta última podía ser AIA o AIB, A pesar de que la BAP y la zeatina fallaron en la promoción del desarrollo de vástagos axilares, se observaron algunas respuestas interesantes de los explantes; como -- por ejemplo, en éste tipo de medio sólo se iniciaron 1 ó 2 brotes, no -- hubo elongación adicional, pero si proliferación de diminutos vástagos-- secundarios o terciarios, los que fueron examinados al microscopio e in -- terpretados como diminutas inflorescencias femeninas, la concentración-- de la BAP y de la zeatina fue la misma que la empleada para las auxinas (26). En otro experimento realizado en 1978, ahora en Nigella da mascena se midió la sensibilidad diferencial a reguladores del crecimiento vege -- tal en el cultivo de brotes florales dobles o sencillos. Estos resulta-- dos indican que es ampliamente aceptado que los reguladores del creci-- miento estén involucrados en la iniciación, crecimiento y desarrollo -- floral. Tres aproximaciones pueden mencionarse: a) Los reguladores del crecimiento suplementados a los meristemas por aplicaciones externas o-

por el cultivo in vitro de meristemos; b) Estimación del contenido endógeno de los reguladores del crecimiento en los meristemos del mismo estado de desarrollo, y c) El análisis de meristemos en diferentes estados de desarrollo. En la especie donde la flor doble y la flor sencilla -- están reguladas genéticamente y donde la expresión doble es recesiva, -- se observó que las flores sencillas crecieron bien en un medio que carecía de hormonas, mientras que las dobles requirieron citocininas y AG_3 para el desarrollo completo de los órganos. La iniciación de los estambres y nectarios en las flores sencillas fueron severa y selectivamente-inhibidos por la adición de AG_3 al medio o en combinación con AIA o K.

En comparación, las flores dobles requirieron AG_3 o K como suplementos para la iniciación y crecimiento de los órganos (25).

A En 1968, se llevó a cabo un experimento con la finalidad de definir un medio nutritivo con el objeto de investigar los efectos de la glicerina en los minerales del medio de White (1943); se determinó que la naturaleza de las sustancias esenciales para la iniciación del carpelo son aún desconocidas, proponiendo que puede ser una fuente de nitrógeno orgánico ácidos nucleicos u hormonas desconocidas, así como también del factor -- edad del brote floral (2).

En esta misma especie, pero en 1972, se encontró que la cinetina no favorece la formación de los órganos florales, mientras que en un medio con AG_3 los sépalos, pétalos y carpelo se diferenciaron y los estambres abortaron (3).

En otro trabajo experimental se determinó que la glutamina es la mejor -- fuente de nitrógeno para el cultivo de yemas axilares de trigo; así mismo se vió que todas las otras fuentes de nitrógeno, como el nitrato de amonio, nitrato de potasio o cloruro de amonio resultaron pobres para la acumulación de materia seca, y esta reducción fue más severa con el incremento de amonio en el medio (32,33).

En otro trabajo de regulación sexual, ahora en cañamo y espinaca, se observó que la regularización por las fitohormonas es efectiva sólo en estos iniciales de desarrollo; así mismo se determinó que el AG_3 favorecía-

la masculinización y que la BAP y AIA la feminización (8).

Por otro lado la asociación de prolificidad en maíz con altas producciones a gran escala, así como gran tolerancia a altas densidades de cultivo, ha estimulado el interés por conocer los mecanismos genéticos y fisiológicos que regulan el número de mazorcas. Hay evidencias que indican que la inhibición de las yemas basales es debido a la dominancia apical; sin embargo hay otras opiniones que atribuyen esta dominancia a factores nutricionales y hormonales en la naturaleza, siendo posible llegar a una conclusión general, en la que se piensa que la dominancia de los vástagos de mazorca puede ser atribuida a la competencia -- por las substancias promotoras del crecimiento y por nutrientes (34).

Actualmente se ha desarrollado un "Modelo de Control Multifactorial de la Floración" en donde se propone que varios factores la promueven o inhiben, y que están involucrados en el control de la iniciación de la floración; se piensa que esto sucede sólo cuando todos los factores están presentes en el ápice en apropiadas concentraciones y en el momento adecuado. Mientras que los fotosintatos y los reguladores del crecimiento vegetal pueden estar ausentes o presentes en cantidades infra o supraóptimas, por lo que cada uno de los factores puede no actuar necesariamente en la misma dirección en todas las plantas; la variación genética también puede estar presente en las condiciones de cultivo. De esta manera se ha visto que las citocininas exógenas causan la promoción o inhibición en la iniciación de las flores y su efecto generalmente depende de la ausencia o presencia de otros reguladores del crecimiento; estas hormonas son también un requerimiento para la floración en muchos sistemas *in vitro*.

Las giberelinas han sido el grupo de hormonas más estudiadas, ya que pueden promover la floración en muchas plantas de día largo o con requerimientos de frío; aunque participan dramáticamente en la elongación de los entrenudos, su participación en la iniciación de la floración es aún controvertida. Las auxinas se han relacionado con: a) La inhibición o promoción de la iniciación floral en plantas de día corto o largo; b) La inhibición supera a la promoción; en estudios recientes se ha visto que a bajas concentraciones las auxinas son promotoras y a altas dosis son inhibidoras.

Falta página

N° 19

La inhibición por altas dosis puede estar relacionado por el aumento de inhibidores por la biosíntesis del etileno (1).

Estudios in vitro han confirmado que las auxinas son simplemente opuestas a la floración, su presencia en una cierta concentración es requerida si las flores son formadas por varios tipos de explantes.

Las observaciones tienden a implicar a las auxinas en la transición floral y aparentemente altos niveles la inhiben, pero los bajos niveles - pueden ser igualmente limitantes (1). Existen otros factores involucrados en la floración de las plantas, tales como: a) Fotoperíodo, implicado en la formación de yemas vegetativas y su cambio a reproductivas, -- siempre ha despertado interés y se piensa que puede deberse al desencadenamiento de un estímulo químico que es translocado hacia el ápice -- donde la floración es inducida; b) Temperatura, se piensa que es más -- importante la de la noche que la del día; c) La dominancia apical, este factor está más involucrado con la posición de las yemas que con el ambiente, se cree que es debida al efecto de las auxinas producidas por la yema apical y se ha visto que en muchas especies vegetales, las yemas laterales en su mayoría permanecen sin desarrollarse mientras que la yema terminal esté presente (7, 31).

III. MATERIALES Y METODOS.

1. Material biológico.

Esta investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología - del Centro de Genética del Colegio de Postgraduados, empleándose inflorescencias femeninas de maíz (Zea mays L.), del genotipo CP-86 344 # to madas de una línea del programa de Arquetipos de Maíz del Area de Fisiotecnia Vegetal del mismo Centro.

2. Etapa de invernadero.

En un invernadero de polietileno se hicieron siembras periódicas de -- maíz, cada 15 días, en 35 macetas con suelo y dos plantas en cada una, regándolas 2 ó 3 veces por semana con agua o solución nutritiva completa y deshierbando cada vez que fue necesario. Durante el crecimiento se marcaron con pintura de aceite a la 5a. y 10a. hojas liguladas con - el fin de obtener un indicador externo del estado de desarrollo en el - que se encontraban las inflorescencias femeninas y poder decidir el momento de su siembra in vitro (Cuadro 1, Figura 1).

Las plantas utilizadas para obtención de explantes tuvieron de 8 a 19 hojas liguladas, por lo que se estudiaron diferentes etapas de desarrollo y tamaños de inflorescencias, en las que se probaron en primer - lugar sus respuestas a tres estados físicos del medio de cultivo: Sólido, líquido con soporte de papel filtro y líquido sin soporte, así como diferentes tratamientos hormonales.

Previo a la siembra in vitro se muestrearon las plantas de invernadero, tomando de 2 a 3 plantas representativas para evaluar en ellas el - grado de vigor, la sanidad y el acame. Con la ayuda de un estereomicroscopio se disecaron por completo las inflorescencias femeninas y se determinó su etapa de desarrollo, para tratar de predecir la fecha de la siembra in vitro, tomando en cuenta que en 4 ó 5 días cambiaban de una etapa de desarrollo a otra, según la escala de Victor A. González H. (comunicación personal), como se muestra en el Cuadro 1.

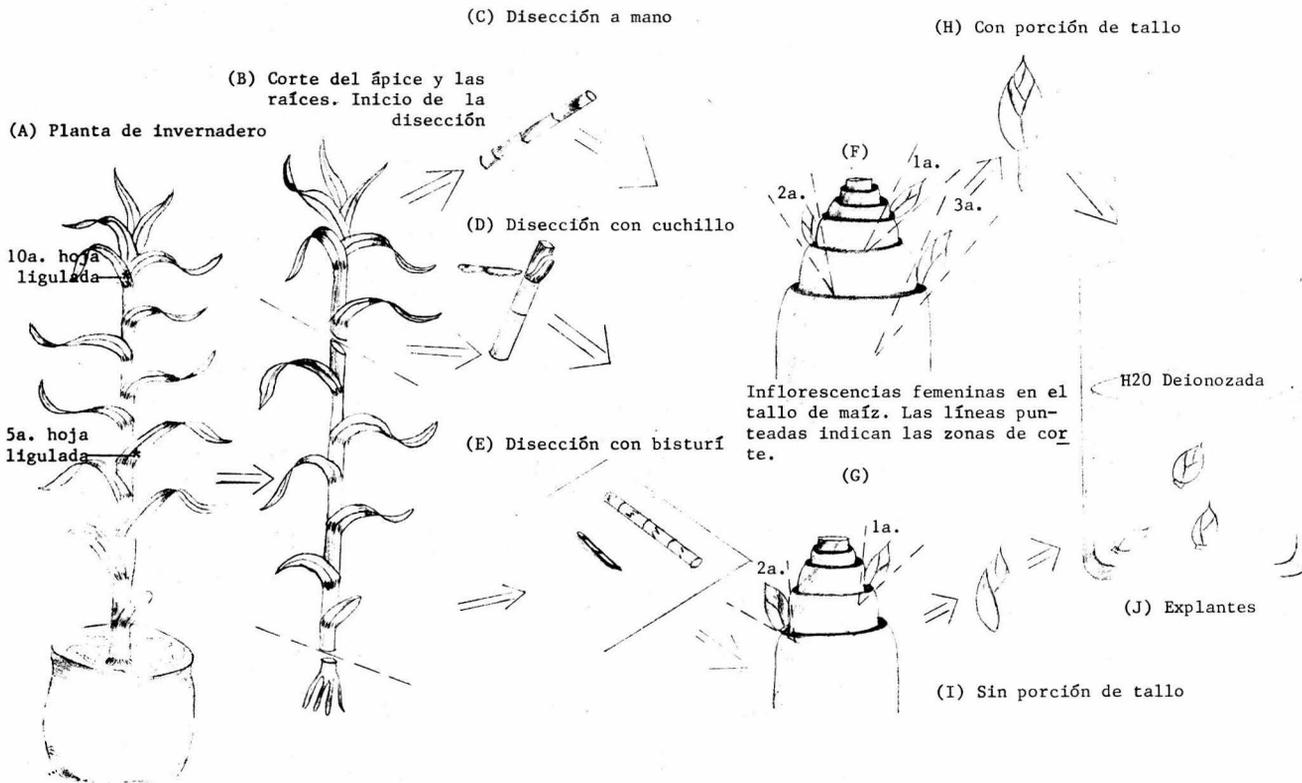


Figura 1. Tres tipos de disección realizados para la obtención de las inflorescencias femeninas de maíz.

3. Etapa de laboratorio.

3.1 Medio de cultivo.

El medio básico empleado fue el de Murashige y Skoog (1962) denominado MS, constituido por sales inorgánicas y complementado con ácido indol-3-acético (AIA) en dosis de (0.01 a 0.125 mgL^{-1}), 6-Bencilaminopurina (BAP) de (1.0 a 6.25 mgL^{-1}) y ácido giberélico (AG_3) de (0.5 a 1.25 mgL^{-1}).

Durante la fase experimental se manejaron tres condiciones físicas del medio de cultivo, siendo estas: Sólido, líquido con soporte de papel-filtro y líquido sin soporte (Figura 2). El procedimiento general para la preparación del medio de cultivo fue el siguiente: Se mezclaron las soluciones madre inorgánicas del medio MS y las orgánicas en un vaso de precipitado conteniendo agua deionizada y sacarosa; posteriormente se adicionaron las hormonas según el experimento a desarrollar, se aforaron a la cantidad requerida y se procedió a ajustar el pH. a 5.8 con HClN ó NaOHIN; finalmente a los medios sólidos se les --- agregó el agar. Posteriormente se licuó y se sirvieron 10 ml de medio de cultivo en frascos de vidrio de 35 x 55 mm. La esterilización del medio fue en autoclave vertical a 15 lb/pulg^2 de presión durante 20-- minutos a 120° C .

4. Etapas experimentales

4.1 Influencia en la condición física del medio de cultivo en el crecimiento y desarrollo in vitro de inflorescencias femeninas de maíz (experimentos 1 y 2).

De plantas de maíz con 9 a 14 hojas liguladas, se disecaron las tres-- primeras posiciones en sentido apical-basal para el Experimento 1 y para el experimento 2 las dos primeras en el mismo sentido provenientes de plantas con 15 a 18 hojas liguladas. Estas inflorescencias se sembraron asépticamente en las diferentes condiciones físicas del medio de

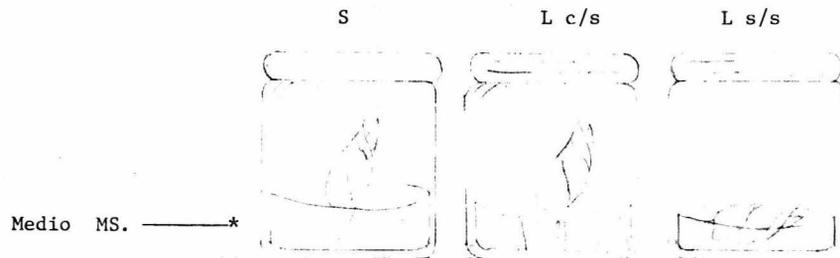


Figura 2. Condiciones físicas del medio de cultivo: Sólido (S); Líquido con soporte (Lc/s); y Líquido sin soporte (L s/s). Se sirvieron 10 ml. de medio, depositando el explante dentro del medio, con o sin tallo y con o sin brácteas, dependiendo del experimento en cuestión.

cultivo (Figura 2).

Para el proceso de disección de los explantes, las plantas del invernadero fueron retiradas de las macetas dejando 5 para su utilización al final del experimento (comparación in vivo): posteriormente fueron llevadas al laboratorio donde se separaron por grupos, dependiendo del número de hojas liguladas que poseían (Figura 1).

Después en recipientes con agua se mantuvieron las plantas completas y con un cuchillo se cortaron las raíces y hojas a cada planta. Con un bisturí y a mano se eliminaron las hojas hasta dejar descubiertas las inflorescencias femeninas de las posiciones anteriormente indicadas (Figura 1: F, G).

4.1.1. Experimento 1.

Los explantes se dejaron con la totalidad de las brácteas; a un grupo de estas inflorescencias femeninas se les hizo con el bisturí una incisión en el tallo en forma de "V" y al resto de las inflorescencias se les cortó junto con un centímetro del tallo, también en "V" al final de éste.

4.1.2. Experimento 2.

A los explantes sólo se les dejaron las brácteas de menor tamaño, y se separaron del tallo mediante un corte con bisturí de 5 mm., y haciendo un corte en "V" al final de éste.

Una vez extraídos los explantes, se les depositó en vasos de precipitados de 500 ml., con agua deionizada, agrupándolos según el número de hojas liguladas y posición, manteniéndolos así hasta el momento de su siembra in vitro. Ya en la cámara de siembra (Figura 3), las inflorescencias fueron colocadas en frascos esterilizados con agua destilada esteril conforme su procedencia.

Para la desinfección de los explantes, se les mantuvo en etanol al 70% por 2 minutos (v/v), 15 minutos en hipoclorito de calcio (p/v) al-

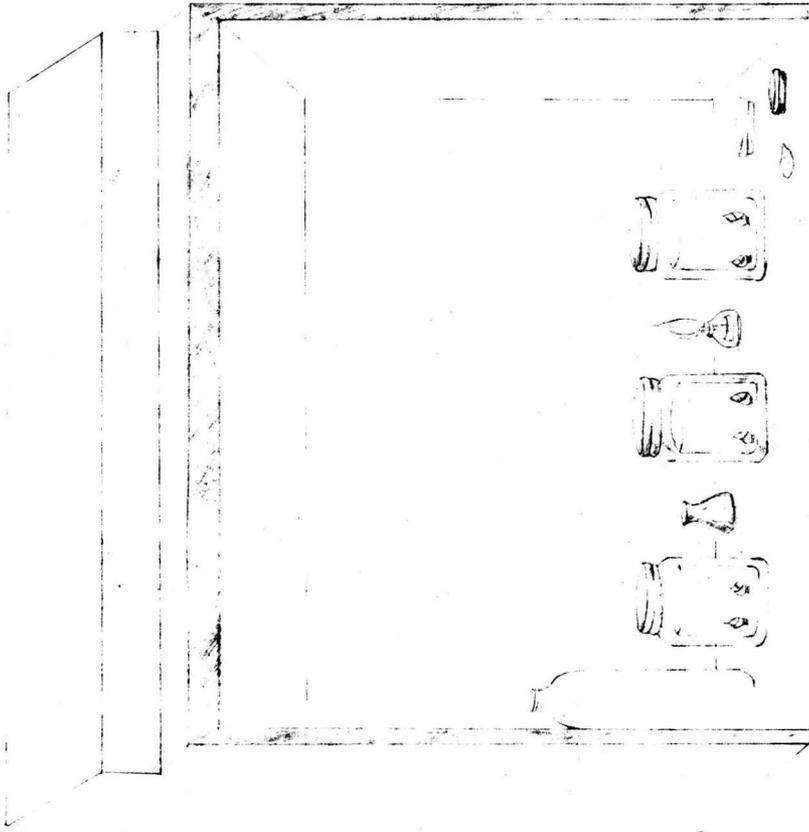


Figura 3. Explantes desinfectados en frascos con agua estéril, separados por número de hojas liguladas (HL) y posición (1a., 2a., y 3a.) en sentido apical-basal.

3% con una gota de Tween 20 por cada 100 ml., finalmente se les dió tres enjuagues con agua destilada estéril.

Se aplicaron 9 tratamientos hormonales de BA-AIA en un intervalo de (0.1 a 5.0 mgL⁻¹) para cada condición física del medio de cultivo-- (Cuadro 2).

Cuadro 2: Tratamientos hormonales utilizados en la siembra in vitro de inflorescencias femeninas de maíz (Experimentos 1 y 2).

Experimento	Hormonas (mgL ⁻¹)		No. de Repeticiones
	BA	AIA	
1	0	0	8 Por condición física y posición.
	1	0	
	5	0	
	0	0.1	
	1	0.1	
	5	0.1	
	0	5	
	1	5	
	5	5	
2	0	0	6 Por condición física y posición.
	1	0	
	5	0	
	0	0.1	
	0	5	
	0	5	

En el experimento 1 se sembraron inflorescencias de las tres primeras - posiciones con un total de 648 frascos con 8 repeticiones por tratamien- to. En el experimento 2 el número de frascos sembrados fue de 144 con 6 repeticiones por tratamiento.

En el proceso de la siembra, las inflorescencias femeninas desinfectadas se sacaron de los frascos estériles agrupándolas en 4, colocándolas dentro de una caja de petri estéril que es su parte inferior tenía pegada una escala de 40mm de papel milimétrico, con la que se midieron. Con pinzas curvas se tomaron las inflorescencias sin porción de tallo, e inflorescencias con 10 mm de tallo.

Todas ellas se sembraron en los tres estados físicos del medio de cultivo y en cada uno de los 9 tratamientos por cada condición física y tratamiento hormonal y para cada grupo de hojas liguladas y posición de los explantes. Esto se hizo con la finalidad de que todos los medios tuvieran la misma oportunidad de ser usados y cada explante pudiera ser comparado.

En el estado líquido con soporte de papel filtro se utilizó papel Wattmann de los números 1, 5, 40 y 50, así como papel filtro grueso en pliego el que finalmente fue elido para seguirse utilizando en el resto de la fase experimental.

En el medio sólido se introdujo aproximadamente 2 mm del tejido. En estos experimentos no se determinó la etapa de desarrollo al momento de la siembra in vitro.

Las evaluaciones in vitro fueron cualitativas y cuantitativas a los 20, 30 y 40 días. Las cualitativas consistieron en determinar el porcentaje de oxidación, color de los explantes y forma de los mismos.

Las evaluaciones cuantitativas consistieron en determinar la etapa de desarrollo de las inflorescencias y crecimiento expresado como Tasa de Crecimiento Diario ($\mu\text{m}/\text{día}$). Estas evaluaciones se hicieron en condiciones no estériles con la ayuda de un bisturí y un estereomicroscopio, mientras que las evaluaciones cualitativas se hicieron por apreciación directa de los explantes en condiciones asépticas (Figura 4).

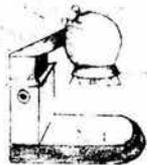


Figura 4. Equipo utilizado para la siembra.

4.2. Crecimiento y desarrollo de inflorescencias femeninas de maíz en diferentes niveles hormonales, sembrados en medio sólido y líquido con soporte de papel filtro (Experimento 3).

Se emplearon plantas con 15 a 16 hojas liguladas y se disecaron las dos primeras inflorescencias femeninas en sentido apical-basal (Figura 1G). En este caso las plantas del invernadero se retiraron dejando tres plantas para la comparación in vitro en cada muestreo; -- posteriormente se llevaron al laboratorio donde se contaron y cortaron las hojas (tomando en cuenta la 5a. y la 10a. hojas liguladas -- previamente marcadas). Los explantes se obtuvieron con la ayuda de un cuchillo, cortando la región plana del tallo por ambos lados para dejar descubiertas a las inflorescencias; el resto de hojas se quitó a mano y con bisturí. Los explantes se cortaron sin porción de tallo, separándolos de la misma manera que en los anteriores experimentos.

La desinfección de los explantes en este experimento se hizo en etanol al 70% durante 2 minutos (v/v) 15 minutos en hipoclorito de -- calcio al 3% (p/v) con una gota de Tween 80 por cada 100 ml; finalmente se les dieron tres enjuagues con agua destilada estéril.

Las inflorescencias se sembraron en el medio MS con 15 combinaciones hormonales de BA-AIA-AG₃, en una concentración de (0.1 a 6.25 mgL⁻¹) para cada estado físico del medio de cultivo (Cuadro 3). En total se sembraron 382 frascos; 271 en medio sólido y 111 en estado líquido con soporte, teniendo 10 y 4 repeticiones respectivamente.

CUADRO 3: Tratamientos hormonales utilizados en la siembra in vitro de inflorescencias femeninas de maíz (Experimento 3).

HORMONAS (mgL ⁻¹)			HORMONAS mgL ⁻¹)		
BA	AIA	AG ₃	BA	AIA	AG ₃
0	0	0	6.25	0.125	0
1	0	0	0	0.1	1
1.25	0	0	0	0.125	1.25
0	0.1	0	1.25	0	1.25
0	0.125	0	5	0	1
0	0	1	6.25	0	1.25
0	0	1.25	1	0.2	1
5	0.1	0			

En este experimento el proceso de siembra se diferenció de los dos anteriores en que se empleó papel absorbente en las cajas de petri, que sirvió para quitar el exceso de agua en condiciones estériles. Después, -- las inflorescencias se pasaron a la caja de petri con la escala de 40 mm de papel milimétrico. Al momento de la siembra un grupo de explantes -- posefan únicamente las brácteas de menor tamaño y una porción de tallo-- menor de 5 mm; el resto de los explantes sin tallo ni brácteas, pudieron así reconocerse la etapa de desarrollo al momento de la siembra. El resto de la siembra fue similar a la de los experimentos anteriores.

Las evaluaciones cuantitativas in vitro se hicieron a los 0, 10, 20 y 30 días. Las evaluaciones cuantitativas in vitro se hicieron a los 5, 10, 20 y 30 días.

- 4.3 Siembra de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal de inflorescencias femeninas de maíz sin brácteas, determinando el estado inicial de desarrollo en medio sólido y líquido con soporte de papel filtro. (Experimentos 4a y 4B).

Se emplearon plantas con 9 a 10 hojas liguladas y se disecaron las dos - primeras inflorescencias femeninas de maíz en sentido apical-basal, sembradas posteriormente en condiciones estériles.

El procedimiento para obtener los explantes fue similar al del experimento 3 (Figura 1D); igualmente se dejaron tres plantas en el invernadero por día de muestreo para tener la comparación in vivo. Las inflorescencias se mantuvieron en forma similar al experimento anterior (Figura 3).

La desinfección de los explantes en este experimento se hizo con etanol al 70% (v/v) durante 2 minutos, hipoclorito de sodio (Cloralex) al -- 50% (v/v) por 15 minutos con una gota de Triton por cada 100 ml., al -- término de éste proceso se dieron tres enjuagues con agua destilada estéril permaneciendo así hasta el momento de la siembra.

Las inflorescencias fueron colocadas en el medio MS con 8 combinaciones hormonales de BA-AIA-AG₃ en un intervalo de (0.1 a 2.5 mgL⁻¹) (Cuadro-4). Para los dos estados físicos se sembró un total de 634 frascos: 574 para el estado sólido y 60 para el líquido con soporte.

CUADRO 4 : Tratamientos hormonales utilizados en la siembra in vitro de inflorescencias femeninas de maíz (Experimentos 4a y 4B).

EXPERIMENTO	HORMONAS (mgL ⁻¹)			NUMERO DE REPETICIONES	
	BA	AIA	AG ₃	S *	Lcs.**
4a.	0	0	0	45	
	0	0	0.5	18	
	2.5.	0	0	29	
	0	0.01	0.01	18	
	2.5	0.01	0.05	34	
	2.5	0	0.5	34	
	0	0.1	0.5	45	
	5	0	0.5	34	
4b.	0	0	0	10	10
	2.5	0	0	10	10
	0	0.01	0.5	10	10

El proceso de siembra de las inflorescencias en este experimento varió sólo en los siguientes puntos: a) Los frascos en los que se desinfectaron las inflorescencias fueron tapados con gasas y ligas, después con la tapa del frasco se selló éste con la finalidad de que en cada cambio de soluciones no se perdieran explantes como -- había venido ocurriendo; b) Se continuó con el papel absorbente en las cajas de -- petri; c) Con el bisturf se cortó la porción de tallo, después con la punta de éste se cortaron las brácteas de la inflorescencia hasta desnudarla por completo (todo esto se hizo bajo el estereomicroscopio en condiciones asépticas); y d) Los explantes se pasaron a una caja de petri con la escala de 40 mm., de papel milimétrico, esta caja de petri tenía una película de agua que impedía la deshidratación de los explantes antes de la siembra in vitro. La siembra se hizo similar a los experimentos anteriores. Las evaluaciones se hicieron en dos formas: a) Evaluaciones-cuantitativas y cualitativas a los 0, 10 y 20 días para los explantes sembrados en medio sólido (Experimento 4a); b) Evaluaciones cuantitativas y cualitativas a los 0, 5, 10 y 20 días, sembrados en medio sólido y líquido con soporte (Experimento 4B).

* Sólido

** Líquido con soporte.

Con base en los resultados de los experimentos anteriores, se eligieron las mejores combinaciones hormonales, así como el estado físico adecuado que mejor favoreciera el crecimiento y desarrollo de los explantes - - - in vitro para los subsiguientes experimentos.

- 4.4 Siembra de las dos primeras inflorescencias de maíz en sentido apical-basal en las mejores combinaciones hormonales y estado físico de cultivo. Seguimiento de un grupo de explantes por subcultivo (Experimento 5).

Se decidió tomar explantes de plantas con 8 a 11 hojas liguladas porque se observó que en estados más tempranos del desarrollo era posible ver cambios morfológicos del desarrollo con mayor notoriedad.

En este experimento se disecaron las dos primeras inflorescencias en sentido apical-basal, las cuales se sembraron in vitro bajo condiciones estériles en medio sólido.

El procedimiento para obtener las inflorescencias fue similar a los tres experimentos anteriores, variando en la utilización del bisturf (Figura 1 E). Igualmente se dejaron tres plantas por día de muestreo para la comparación in vivo.

Los explantes fueron sembrados en el medio MS (1962) con las cuatro mejores combinaciones hormonales de BA-AIA-AG₃ en un intervalo de (0.01 a 1 mgL⁻¹) en el estado sólido (Cuadro 5).

CUADRO 5 : Tratamientos hormonales utilizados en la siembra in vitro de inflorescencias femeninas de maíz en medio sólido. (Experimento 5)

BA	HORMONAS (mgL ⁻¹)		NUMERO DE REPETICIONES
	AIA	AG ₃	
0	0	0	30
2.5	0	0	39
0	0.01	0.5	16
0	0.1	1.0	18

Se sembró un total de 234 frascos; el proceso de siembra fue igual al hecho en los experimentos de 4a y 4b.

Las evaluaciones cualitativas y cuantitativas se efectuaron a los 5, 10, 15 y 20 días de cultivo, de la siguiente manera: a) Cada 5 días se disecó un determinado número de inflorescencias de cada tratamiento y posición, examinándolas al microscopio estereoscópico para determinar la longitud y etapa de desarrollo de los explantes (Cuadro 1; Figura 5) así como el porcentaje de oxidación, color y la forma de las mismas; -- b) Cada 5 días se subcultivó un grupo de inflorescencias a medio fresco de todos los tratamientos y de ambas posiciones en condiciones asépticas y determinándose las mismas variables que en el inciso (a); c) - Un grupo de inflorescencias fue evaluado cada 5 días, tomando en cuenta sólo las variables cualitativas.

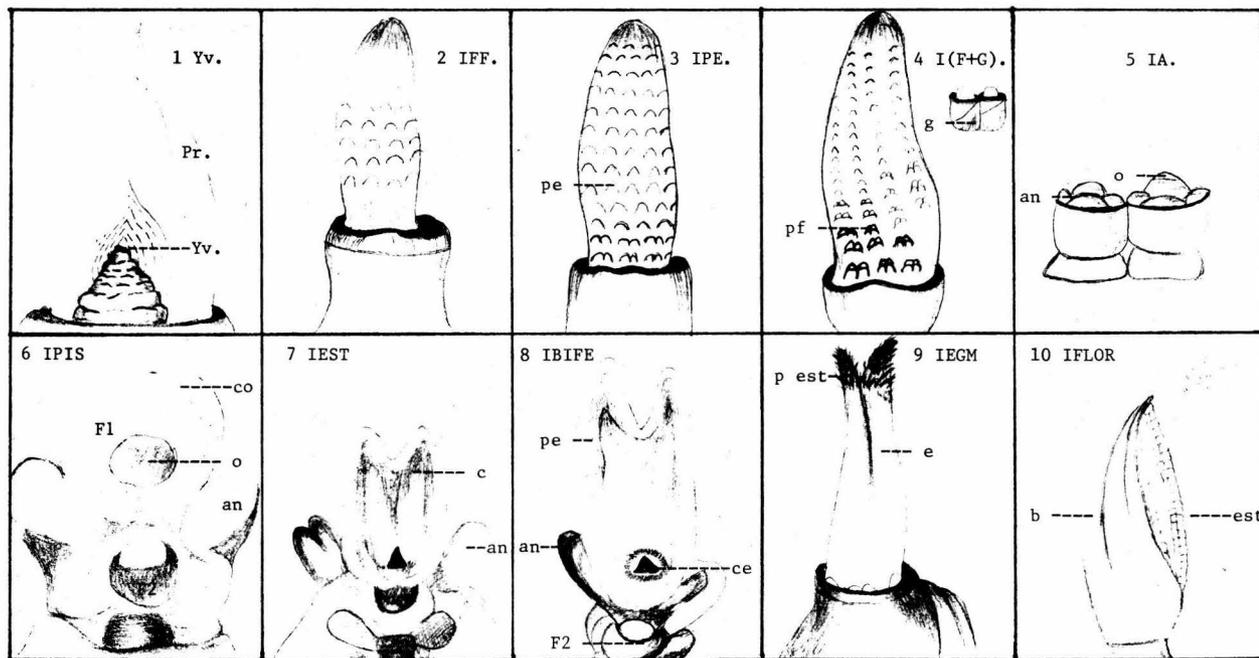


Figura 5. Etapas de desarrollo de las inflorescencias femeninas de maíz tomadas de Bonnett (1983) y adaptadas a una escala decimal por V.A. González H.: pr: profilio ; Yv.: Yema vegetativa; pe: primordios de espiguillas; pf: primordios de flósculos; g: primordios de glumas; o: primordio de ovario; an: primordios de anteras; co: primordio del carpelo del ovario; c: carpelo; ce: canal del estilo; pe: primordio del setilo; e: estilo; p est: primordios de estigmas; est: estigmas; F1: flósculo superior; F2: Flósculo inferior; b: bráct+ teas.

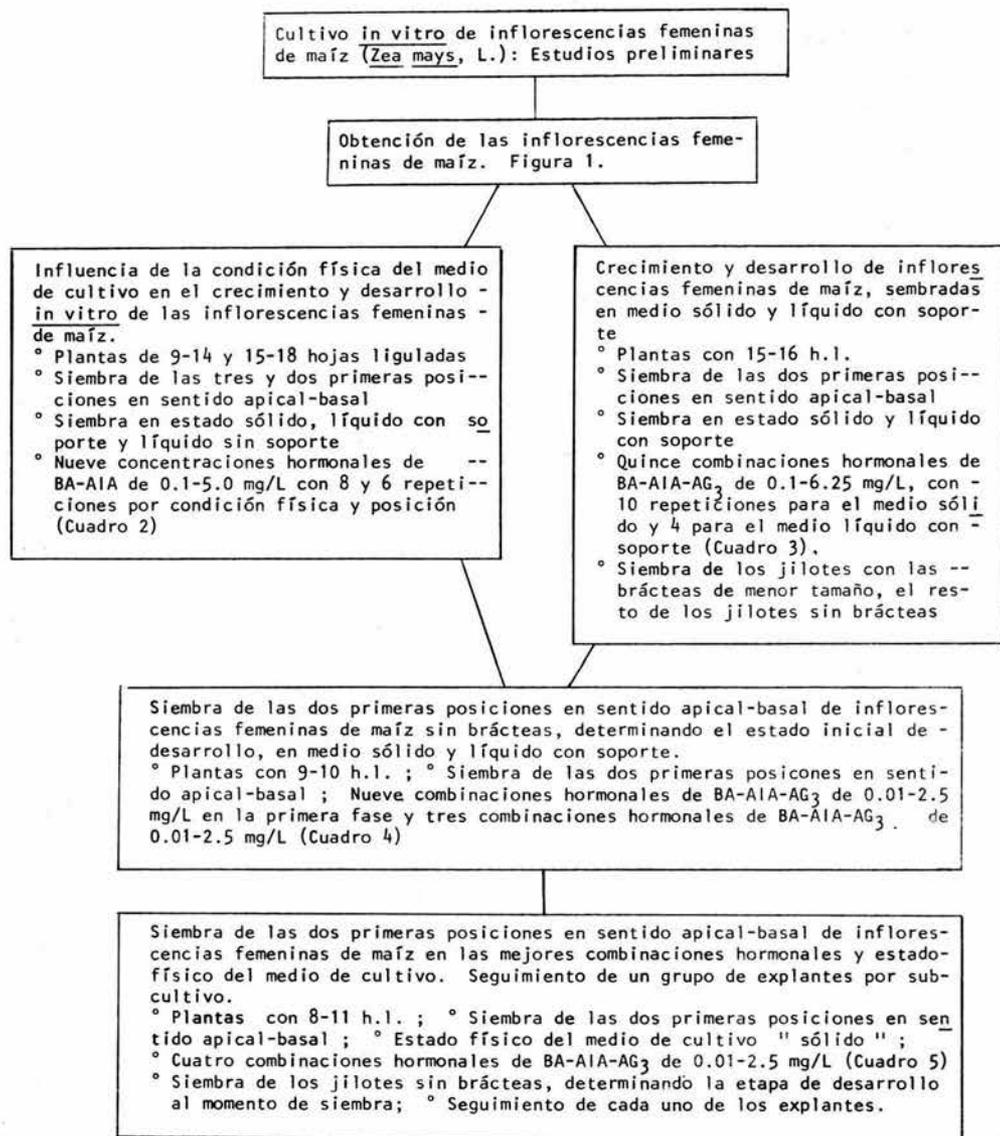


DIAGRAMA DE FLUJO DE LA METODOLOGIA EMPLEADA PARA EL CULTIVO in vitro DE INFLORESCENCIAS FEMENINAS DE MAIZ.

IV. RESULTADOS.

1. Experimento 1.

Se hizo con la finalidad de evaluar la influencia de la condición física del medio de cultivo en el crecimiento y desarrollo de inflorescencias femeninas de maíz in vitro, obtenidas de plantas con 9 a 14 hojas liguladas. El promedio de las plantas fue en 12 y 13 hojas liguladas.

1.1. Oxidación.

Se observó oxidación de los explantes en los tres estados físicos del medio de cultivo, así como en las tres posiciones. El patrón de oxidación fue heterogéneo, haciendo difícil el establecer con claridad el o los tratamientos donde ésta es mínima.

En los estados físicos líquido con y sin soporte, la oxidación se presentó - desde los primeros 20 días de cultivo, mientras que en el estado sólido ocurrió después. No obstante esto último, los porcentajes promedio de oxidación indican que es en el estado líquido con soporte donde se registró el menor porcentaje en las tres posiciones (Cuadro 6: Figura 6). En cuanto a posición, los porcentajes promedio de oxidación indican que no hubo diferencias entre las posiciones 1, 2 y 3 (Figura 7).

Aparentemente existe la tendencia a una menor oxidación en los tratamientos con 5 mgL^{-1} de AIA, con o sin BA; esto es, que hay una menor oxidación al aumentar la auxina en el medio, con porcentajes promedio de un 32 a 35 % (Cuadro 6).

1.2. Etapas de Desarrollo.

En cuanto al avance en el desarrollo floral, se observó que éste ocurrió aún cuando en muchos casos fue difícil precisarlo debido a que en todos los medios se observaron deformaciones en los explantes, lo que dificultó el reconocimiento de las etapas de desarrollo. La rapidez con que estas aparecieron dependió del estado físico del medio de cultivo y de la posición del jilote. Así en el medio sólido las anomalías se conservaron prácticamente - - hasta los 30 días después de la siembra in vitro para los explantes de posi

ción 1, para los de posición 2 éstas se hicieron presentes entre los 25 y 30 días de cultivo in vitro, y desde los 20 días en los de posición 3. En el medio líquido con soporte las anomalías se presentaron prácticamente en las tres posiciones desde los primeros 20 días de cultivo in vitro; sin embargo, en las dos primeras posiciones los estados de desarrollo se podían reconocer, lo mismo sucedió en el medio líquido con soporte (Cuadros 7,8 y 9).

Las anomalías que con frecuencia se presentaron en el medio sólido fueron; formación de callo y ensanchamiento, principalmente la base de los explantes, también deshidratación de los primordios de espiguillas o flósculos (Se observó con mayor frecuencia en los explantes sembrados con la totalidad de sus brácteas, creciendo éstas en lugar de tener algún cambio el jilote). En el líquido con soporte, se observaron las siguientes anomalías; generalmente se arquearon los explantes, semeando en muchas ocasiones "ganchos" en todo el órgano cultivado, a veces esto se hizo más evidente en el ápice, también fue notoria la formación de callo en la base del explante, así como posible deshidratación de los primordios (semejante al estado sólido) o crecimiento de apéndices semejando estilos (posiblemente paleas); en los primordios también se presentó la formación de callo, lo que hizo imposible reconocer en los explantes etapas de desarrollo. En el líquido sin soporte los explantes generalmente tuvieron un alargamiento y arqueamiento muy acentuado, al igual que en sus primordios; también se formó callo en la base de los explantes y en primordios (con cierta frecuencia); los explantes presentaron una textura suave o completamente dura, anomalía que sólo se presentó en éste estado físico. Las porciones de tallo pronto se tornaron negras lo que posiblemente redujo el transporte de nutrientes del medio de cultivo al explante, esto se imputa a la deposición de polifenoles y de productos de oxidación (Figuras 9, 10 y 11).

Se determinaron las Máximas Ganancias (MG) de desarrollo in vitro e in vivo, donde en primer lugar se puede ver que los explantes de tercera posición tienen una respuesta muy pobre en condiciones experimentales, al igual que in vivo.

Los explantes de segunda posición dieron ganancias en desarrollo mayores -- que en la primer posición; en ésta última se aprecia que el cambio fue de 1- a 1.5 etapas de desarrollo, en las tres condiciones físicas de cultivo (Cua

Cuadro 6 : Porcentajes promedio de oxidación en inflorescencias femeninas de maíz de la 1a., 2a., y 3a. posición en sentido apical-basal cultivadas en tres condiciones físicas. Datos tomados entre los 20 y 40 días de la siembra in vitro.

Tratamientos BA - AIA (mgL ⁻¹)	PROMEDIO DE OXIDACION (%)												
	POSICION 1				POSICION 2				POSICION 3				
	S	Lcs	Lss	\bar{X}	S	Lcs	Lss	\bar{X}	S	Lcs	Lss	\bar{X}	
0	0	40+ 10	70+ 15	37+ 19	49+ 14	50+ 15	63+ 15	42+ 12	52+ 15	47+ 3	34+ 4	50+ 3	50+ 3
1	0	29+ 8	59+ 21	20+ 16	36+ 15	59+ 9	25+ 19	37+ 16	40+ 15	33+ 2	38+ 8	67+ 6	46+ 5
5	0	45+ 16	56+ 8	63+ 21	55+ 15	60+ 4	34+ 11	67+ 7	54+ 7	54+ 6	38+ 3	55+ 8	49+ 6
0	0.1	34+ 20	53+ 15	28+ 3	38+ 13	31+ 8	36+ 9	37+ 16	35+ 11	40+ 2	100+18	55+ 5	65+ 8
1	0.1	61+ 18	0+ 9	83+ 7	48+ 11	60+ 7	6+ 3	48+ 2	38+ 4	41+ 11	33+ 3	70+ 9	48+ 8
5	0.1	44+ 12	27+ 10	50+ 4	40+ 8	69+ 15	41+ 21	58+ 6	56+ 14	38+ 3	25+ 2	55+ 19	39+ 8
0	5	42+ 8	21+ 5	28+ 6	30+ 9	59+ 21	19+ .9	40+ 4	39+ 3	28+ 8	25+ 5	28+ 2	27+ 5
1	5	52+ 10	25+ 7	--	39+ 8	25+ 8	6+ .7	37+ 7	23+ 4	33+ 3	28+ 8	33+ 11	31+ 7
5	5	42+ 13	10+ 5	28+ 19	27+ 12	39+ 11	13+ 6	53+ 6	35+ 8	59+ 5	0+ 2	45+ 9	35+ 5
	\bar{X}	43+ 13	36+ 11	40+ 12	40+ 11	50+ 11	27+ 27	47+ 8	41+ 10	41+ 47	36+ 6	51+ 8	43+ 6

S: Sólido ; Lcs: Líquido con soporte ; Lss: Líquido sin soporte.

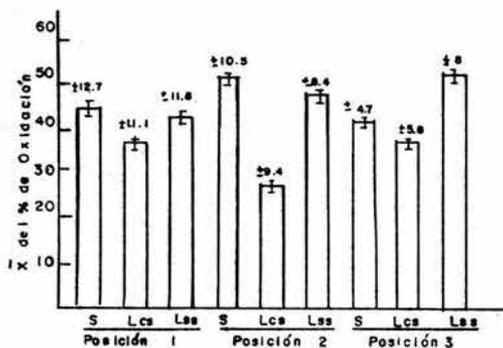


Figura 6 : Porcentajes promedio de oxidación por condición física y posición : S; sólido; Lcs; Líquido con soporte; Lss; líquido sin soporte

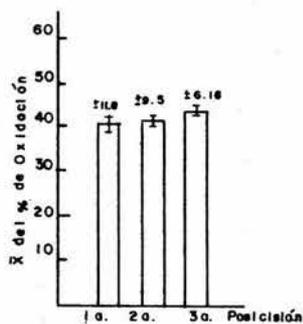
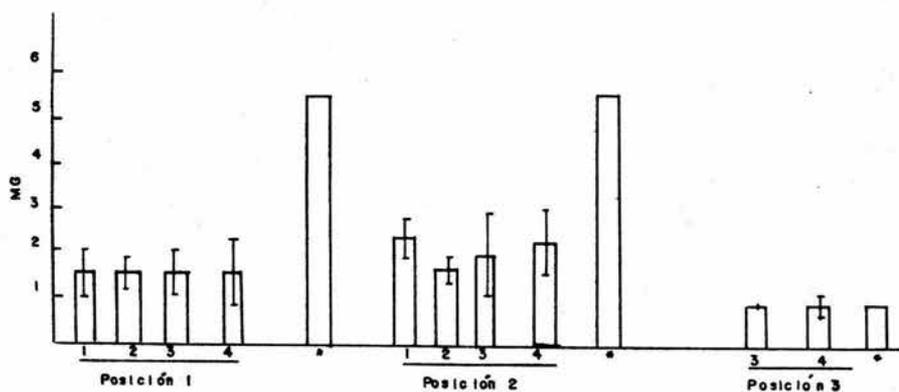


Figura 7 : Porcentajes promedio de oxidación por posición en sentido apical-basal



1: Control; 2: BA; 3: AIA; 4: BA-AIA. (5) in vivo.

Figura 8 : Máximas Ganancias (MG) en el desarrollo floral de jilotes de las tres primeras posiciones cultivados en medio sólido.

Cuadro 7: Etapas de desarrollo de las inflorescencias femeninas de maíz sembradas *in vitro* en medio sólido, de las tres primeras posiciones en sentido apical-basal. Datos tomados entre 20 y 40 días de siembra

Tratamiento		ETAPA DE DESARROLLO																
BA	AIA																	
(mgL ⁻¹)		POSICION 1					POSICION 2					POSICION 3						
		DIAS					DIAS					DIAS						
		0	20	25	30	40 MG	0	20	25	30	40 MG	0	20	25	30	40 MG		
0	0	5.6	6	6	I	1.5 _± .5	5	5	6,I	I	2.4 _± .4	I	--	I	I	--		
1	0	6	5	5	I	1.5 _± .3	5.3	5	5,I	I	1.8 _± .3	I	--	I	I	--		
5	0	5.6	5.5	6	I	1.5 _± .4	4	5	5,I	I	1.5 _± .3	3,I	--	I	I	0 _± 0		
0	0.1	5.5	6	5.5	I	1.5 _± .8	5.3	6	5	I	2.5 _± .9	I	4,I	I	I	1 _± 0		
1	0.1	4.5	5.6	6	I	1.5 _± .1	3.5	6	I	6,I	I	2.5 _± .7	3	4,I	--	I	I	1 _± .1
5	0.1	5.6	6	6	I	1.5 _± .6						4,I	--	I	I	1 _± .2		
0	5	5.6	5	6	I	1.5 _± .4	5	5	5	I	1.5 _± .9	4,I	--	I	I	1 _± 0		
1	5	5.6	6	6	I	1.5 _± .6	5.3	I	I	I	1.8 _± .7	I	4,I	I	I	1 _± .3		
5	5	5.3	6	6	I	1.5 _± .6	6	I	5,I	I	2.5 _± .2	I	4,I	I	I	1 _± .2		
<u>in vivo</u>	4.5					10 5.5	3.5			9 5.5	3			4	1			

I : Indica que los explantes no pudieron evaluarse en su desarrollo por presentar deformaciones como: callo, alargamiento del explante, alargamiento de primordios florales, deshidratación de primordios florales, arqueamiento del ápice.

MG: Máxima Ganancia del desarrollo observado en cultivo in vitro.

Cuadro 8: Etapas de desarrollo de las inflorescencias femeninas de maíz sembradas en medio líquido con soporte in vitro de las tres primeras posiciones en sentido apical-basal. Datos tomados entre 20 y 40 días.

Tratamientos		ETAPA DE DESARROLLO																		
BA	AIA (mgL ⁻¹)	POSICION 1						POSICION 2						POSICION 3						
		DIAS						DIAS						DIAS						
		0	20	25	30	40	MG	0	20	25	30	40	MG	0	20	25	30	40	MG	
0	0	5.2,I	5,I	I		6,I	1.5+.6	5.5,I	5.5,I	5,i		4,I	2	+1	4,I	3,I	3.5,I	4,I	1	+2
1	0	5,I	6,I	5.5,I	5,I	1.5+.3		5-6,I	5,I	--		4,I	2.1+.7		4.5,I	4,I	3,I	3,I	1.5+.4	
5	0	5.5,I	6,I	I		5,I	1.5+.9	5-6,I	--	5,I		4,I	2.1+.4		I	--	4.5,I	I	1.5+.3	
0	0.1	5.5	6,I	I		--	1.5+.1	5	--	4,I	4.3,I	1.5+.3		3,I	3,I	3,I	I	0	+0	
1	0.1	4.5	5.5,I	6,I	4.5,I	--	1.5+.9	3.5	4.5	5,I	4.5,I	4,I	1.5+.5	3	3,I	I	3,I	4,I	1	+6
5	0.1	5,I	5,I	5.5,I	--	1	+7	5,I	I	4,I	I	1.5+.9		4,I	4,I	I	I	1	+4	
0	5	5,I	--	5.5,I	--	1	+3	5,I	I	4,I	4.5,I	1.5+.8		I	4,I	3,I	4,I	1	+3	
1	5	4,I	5,I	4,I	--	.5+.2		5,I	I	4,I	4,I	1.5+.3		I	4,I	3.5,I	5,I	2	+6	
5	5	5,I	--	4,I	I	.5+.2		4.5,I	I	5.2,I	I	1.7+.6		I	4,I	3.6,I	5,I	2	+9	
<u>in vivo</u>	4.5					10	5.5	3.5				9	5.5	3				4	1	

I: Indica que los explantes no pudieron evaluarse en su desarrollo por presentar anomalías como: alargamiento del explante, alargamiento de primordios florales, deshidratación de primordios florales, arqueamiento del ápice.
 MG: Máxima Ganancia del desarrollo observado en cultivo in vitro.

Cuadro 9: Etapas de desarrollo de las inflorescencias femeninas de maíz sembradas en medio líquido sin soporte in vitro en las tres primeras posiciones en sentido apical-basal. Datos tomados entre 20 y 40 días.

Tratamiento BA AIA (mgL ⁻¹)	ETAPA DE DESARROLLO																
	POSICION 1					POSICION 2					POSICION 3						
	DIAS					DIAS					DIAS						
	0	20	30	40	MG	0	20	30	40	MG	0	20	30	40	MG		
0	0	5,I	6,I	6,I	6,I	1.5±.5	--	5,I	5,I	1.5±.2	--	5,I	I	2 ±.1			
1	0	--	5,I	6,I	5,I	1.5±.3	--	5,I	5,I	1.5±.4	--	5,I	I	2 ±.3			
5	0	6,I	5,I	6,I	6,I	1.5±.3	5,I	6,I	6,I	2.5±.21	--	5,I	4.5,I	2 ±.6			
0	0.1	--	5,I	5,I	5,I	1 ±.7	--	6,I	5,I	2.5± 1	4,I	--	4.5,I	1.5±.8			
1	0.1	4.5	5,I	--	6,I	5,I	1.5±.9	3.5	--	6,I	5,I	2.5±.9	3	--	5,I	4,I	3 ±1.9
5	0.1	5,I	--	5,I	5,I	1.5±.4	5,I	5,I	I	1.5± 1	--	5,I	I	2 ±.8			
0	5	5,I	6,I	5,I	5,I	1.5±.9	4,I	--	6,I	2.5±.6	--	--	I	I			
1	5	5,I	--	--	I	1 ±.8	--	5,I	4.5,I	1.5±.7	--	--	4.5,I	1.6±.6			
5	5	6,I	5,I	--	5,I	1.5±.4	--	5,I	4.5,I	1.5±.6	4,I	--	4.5,I	1.5±.7			
<u>in vivo</u>	4.5				10	5.5	3.5		9	5.5	3		4	1			

I: Indica que los explantes no pudieron evaluarse en su desarrollo por presentar anomalías como: callo; alargamiento del explante; alargamiento de primordios florales; deshidratación de primordios florales; arqueamiento del ápice.

MG: Máxima Ganancia del desarrollo observado en cultivo in vitro.



Figura 9. Jilote cultivado en medio sólido de la primera posición en BA a 5 mgL^{-1} de plantas con 12 hojas liguladas a los 30 días de cultivo in vitro. Etapa de desarrollo 4I(F+G), los primordios de flósculos pueden reconocerse en la porción media del explante, en la base hay formación de callo y ensanchamiento de ésta.



Figura 10. Jilote en medio líquido con soporte de posición 1 en BA-AIA a $5-0.1 \text{ mgL}^{-1}$ de plantas con 12 hojas liguladas a los 30 días de cultivo *in vitro*. Etapa de desarrollo 4I(F+G). Arqueamiento general del explante, formación de callo en la base y en algunos primordios de flósculos.



Figura 11. Jilote cultivado en medio líquido sin soporte de tercera posición en AIA a 5 mgL^{-1} de 12 hojas liguladas a los 30 días de cultivo in vitro. Etapa de desarrollo de 3 IPE. Deformación evidente del explante, arqueamiento basal y alargamiento de los primordios de espiguillas, lo que impidió reconocer posteriormente la etapa de desarrollo.

dros 7, 8 y 9). En las figuras 8, 12 y 13 de Máximas de Ganancias de Desarrollo, se observa un comportamiento inconsistente, siendo imposible inclinarse por un grupo u hormona en particular que favorezca el desarrollo in vitro; no obstante los tratamientos en BA y el control, fueron los que presentaron mayor facilidad para reconocer etapas de desarrollo.

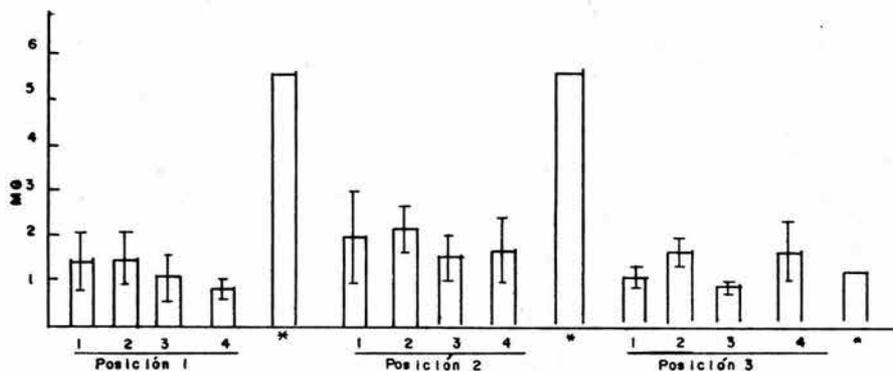


Figura 12 : Máximas Gerencias (MG) en desarrollo floral de jilotes de las tres posiciones cultivados en medio Líquido con soporte. (1): control ; 2: BA ; 3: AIA - 4: BA-AIA. (*) : in vivo; datos tomados entre 20 y 40 días.

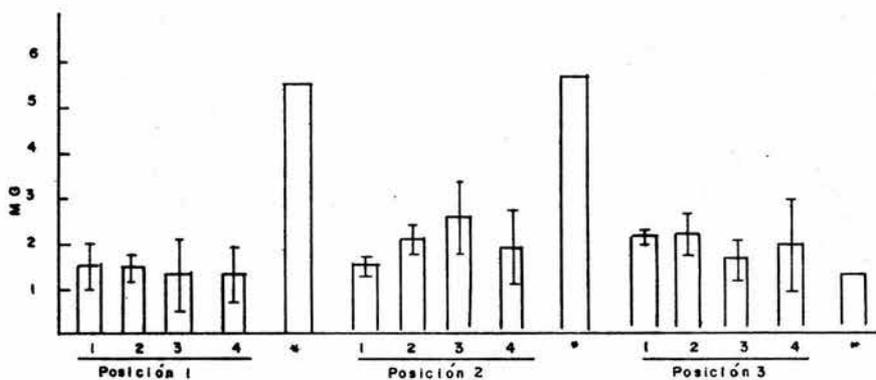


Figura 13 : Máximas Gerencias (MG) en desarrollo floral de jilotes de las tres posiciones cultivados en medio Líquido sin soporte. (1): control ; 2: BA ; 3: AIA; 4: -- BA-AIA. (*) : in vivo; datos tomados entre 20 y 40 días.

1.3. Tasas de Crecimiento Diario.

Se observó crecimiento en todos los tratamientos hormonales y en las tres posiciones de las inflorescencias. No obstante, la alta variabilidad dentro de los tratamientos minimizó las diferencias entre ellos. Para la --tercer posición los resultados se consideran poco representativos porque provienen de pocos datos, ya que hubo muchas anomalías y muerte de explantes.

Por otro lado, en el Cuadro 10 se puede observar que la adición de BA -- (1 a 5 mgL⁻¹) no influyó en forma positiva sobre el crecimiento o T.C.D. con respecto al testigo sin hormonas. La AIA (5 mgL⁻¹) tendió a mejorar la T.C.D., con respecto al testigo, especialmente en ausencia de BA. Tampoco las combinaciones de BA-AIA pudieron superar consistentemente a lo observado, en el control sin hormonas. Ningún tratamiento superó a lo observado en plantas intactas. No obstante, bajo condiciones experimentales las posiciones 1 y 2 observaron mejores tasas de crecimiento que la posición 3 in vitro e in vivo.

2. Experimento 2

Este tuvo la finalidad de determinar la influencia de dos medios de cultivo (Sólido y Líquido con soporte) en el crecimiento y desarrollo de inflorescencias femeninas de maíz de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal, cultivadas in vitro en diferentes niveles hormonales. Las inflorescencias fueron sembradas con un menor número de brácteas y una pequeña porción de tallo (menor de 5 mm) obtenidas de plantas con 15 a 18 hojas liguladas y promedio en 16 y 17 h .l.

2.1. Oxidación.

Se observó que en algunos tratamientos no se presentó oxidación en los explantes, principalmente en el medio sólido. Los porcentajes promedio de oxidación fueron sensiblemente menores en comparación con los del --

CUADRO 10 : Tasas de crecimiento diario (μ m/día) de las inflorescencias de maíz sembradas in vitro en las tres primeras posiciones en sentido apical-basal. Datos tomados entre los 20 y 40 días.

Tratamiento		TASAS DE CRECIMIENTO DIARIO (m/día)											
		P O S I C I O N 1				P O S I C I O N 2				P O S I C I O N 3			
		*S	Lcs	LSS	X	S	Lcs	LSS	X	S	Lcs	LSS	X
BA	(mgl ⁻¹)												
0	0	105±20	198±32	44±2	116±18	144±61	152±16	65±16	120±31	110±6	147±6	150±7	136±6.3
1	0	12±6	102±20	119±29	78±18	83±21	78±21	69±21	77±21	15±6	80±3	229±9	108±6
5	0	39±10	84±15	111±19	78±15	0±0	114±26	85±6	66±10.6	53±3	31±21	107±15	64±13
	X	26±8	93±17.5	115±24	78±16.5	42±10.5	96±23.5	77±13	72±15.8	34±4.5	56±26	168±12	86±14.16
0	0.1	52±10	142±3	22±15	73±9.3	24±3	38±33	0±3	21±13	75±4	87±3	400±7	187±4.6
0	5	288±13	351±10	104±17	241±10	318±19	130±36	157±17	202±21	86±29	96±7	50±16	77±17.3
	X	160±11.5	247±6.5	63±16	157±11.3	171±11	84±34.5	79±5	112±17	81±16.5	92±5	225±11.5	132±11
1	0.1	-3±8	218±6	94±26	103±13.3	168±18	111±18	96±31	25±26.6	66±31	52±2	140±7	86±13.3
5	0.1	150±13	254±21	168±29	191±21	50±20	53±26	144±61	84±15.6	74±21	53±13	165±15	97±16.3
1	5	33±16	59±15	75±3	56±11.3	73±29	37±3	142±36	84±23	83±7	48±16	200±30	110±18
5	5	35±21	267±19	63±7	122±15.6	148±15	2±1	79±29	76±15	112±26	87±15	88±24	96±22
X	X	54±14	200±15.2	100±16.2	118±15.3	110±23.7	51±12	115±39	67±20	84±21.2	60±11.5	148±19	97±17.2
X	X	77±9	136±16	88±15	117±14.6	112±12.1	79±20	93±23.3	95±19.7	75±14.7	76±10	170±14.4	107±13
in vivo		-----3 6 1 2 -----1 7 6 2 -----3 0 0 -----											

* S: Sólido; Lcs: Líquido con soporte; Lss: Líquido sin soporte.

primer experimento, ya que hubo un 10 % en promedio para este experimento (Cuadro 11). El patrón de oxidación tendió nuevamente a ser heterogéneo entre los tratamientos y en el testigo.

No obstante, es ahora en el estado sólido donde la oxidación es menor -- (4.5 %) en comparación con el líquido con soporte (8.1 %), siendo probable que cuando los explantes provengan de plantas con mayor número de hojas liguladas (más avanzadas en desarrollo), estos sean menores. En la figura 14 se puede apreciar que mientras el jilote de posición 1 en el medio sólido, la oxidación es mayor, en el medio líquido con soporte los jilotes de segunda posición tuvieron una oxidación muy alta. En la Figura 15 puede observarse que el porcentaje promedio de oxidación es menor en el estado sólido.

2.2. Etapas de desarrollo

Nuevamente se encontró un comportamiento heterogéneo en las etapas de desarrollo avanzadas bajo cultivo in vitro (Cuadro 12). No obstante, se observa en la Figura 16 que la segunda posición en ambas condiciones físicas fue más activa en cuanto a cambios de desarrollo se refiere, aunque debe de indicarse que es en la primer posición donde las etapas de desarrollo fueron más fáciles de reconocer por tener menor frecuencia de anomalías. En el control y el tratamiento con BA fue donde las etapas de desarrollo se reconocieron con mayor facilidad. Al hacer la comparación de plantas intactas con las experimentales se observó que ningún tratamiento hormonal in vitro se acercó a la respuesta in vitro ---- (Cuadro 12, Figura 16).

Las anomalías, similares a las encontradas en el experimento 1 en los jilotes de ambas posiciones y condiciones físicas de cultivo, se presentaron desde los primeros 10 días. El hecho de que los jilotes se encontraran en una etapa de desarrollo mayor que en el anterior experimento impidió observar ganancias en el desarrollo en una forma notoria al microscopio, es posible que a esta edad sean más susceptibles a sufrir deformaciones (Figuras 17 y 18).

Cuadro 11 : Porcentajes promedio de oxidación en inflorescencias femeninas de maíz en las dos primeras posiciones en sentido apical-basal sembradas in vitro en dos condiciones físicas del medio del cultivo. Datos tomados entre 10 y 30 días.

Tratamiento BA AIA (mgL ⁻¹)		PROMEDIO DE OXIDACION (%)					
		SOLIDO			LIQUIDO CON SOPORTE		
		POSICION 1	POSICION 2	\bar{X}	POSICION 1	POSICION 2	\bar{X}
0	0	0 ± 0	8.3 ± 3.9	4.2 ± 1.9	8.3 ± 3.1	29.2 ± 3	18.8±3
1	0	12.5 ± 3.4	0 ± 1	6.3 ± 2.2	8.3 ± 2.0	4.2 ± 1	6.3±1.5
5	0	6.2 ± 4.7	0 ± .5	3.1 ± 2.6	0 ± .7	15.2 ± .2	7.6±.45
0	0.1	8.3 ± 3.2	0 ± .4	4.2 ± 1.8	0 ± .2	4.2 ± 1	2.1±.6
5	0.1	12.5 ± 6.1	6.2 ± .7	9.4 ± 3.4	6.2 ± .6	0 ± .2	3.1±.4
0	5	0 ± 0	0 ± 1	0 ± .5	12.5 ± 1.5	8.3 ± .6	10.4±1.05
	\bar{X}	6.6 ± 2.9	2.4 ± 1.3		5.9 ± 1.4	10.2 ± 3	
			\bar{X} 4.5 ± 2.1		\bar{X} 8.1 ± 2.2		

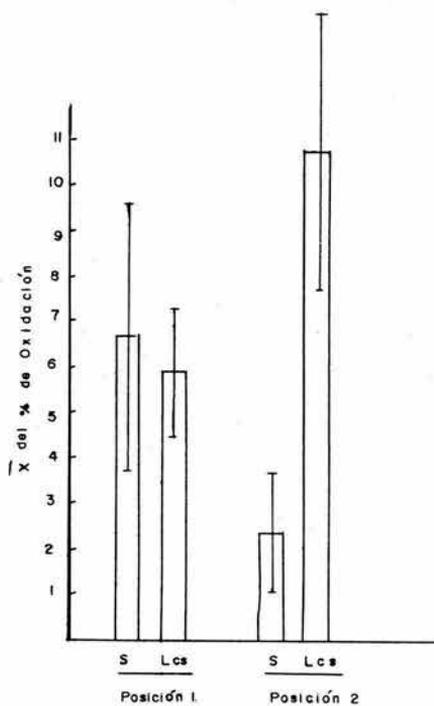


Figura 14: Porcentaje promedio de oxidación por condición física y posición. — S: Sólido; Lcs: Líquido con soporte.

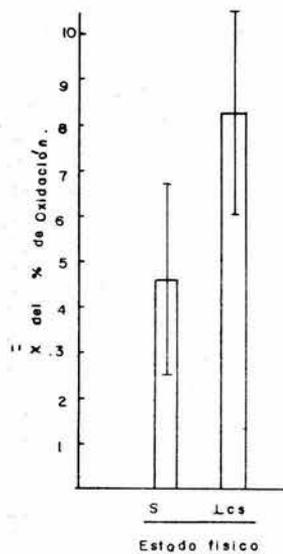


Figura 15: Porcentaje promedio de oxidación por estado físico. --- S: Sólido; Lcs: Líquido con soporte.

Cuadro 12 : Etapas de desarrollo de las inflorescencias femeninas de maíz sembradas en medio sólido y líquido con soporte in vitro de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal. Datos tomados entre 10 y 30 días.

Tratamiento		ETAPAS DE DESARROLLO															
BA	AIA (mgL ⁻¹)	S O L I D O										LIQUIDO CON SOPORTE					
		POSICION 1					POSICION 2					POSICION 1				POSICION 2	
		0	10	20	30	MG	0	10	20	30	MG	10	20	30	MG	10	20
0	0	8.6,1	8,1	8.5,1	.3+2	7,1	7,1	6.5,1	0+0	8.5,1	8,1	8,1	.2+1	8,1	7,1	8,1	.9+3
1	0	8.7,1	8,1	8.8,1	.5+1.31	7.5,1	7.5,1	7.5,1	.4+2	9,1	8,1	8,1	.7+3	7,1	8,1	8,1	.9+4
5	0	8.5,1	---	8.5,1	.2+1.15	9,1	-----	-----	1.9+6	8,1	8	9,1	.7+41	6.5,1	7.6,1	8,1	.9+32
		8.3				7.1											
0	0.1	9	7.5,1	9,1	.7+3	8.5,1	7,1	8,1	1.4+41	8.3,1	8	---	0+1	8	6.5,1	1	.9+51
5	0.1	9	8,1	1	.7+26	8.6,1	7	---	1.5+3	8,1	8,1	---	0+0	7,1	7,1	6.5,1	0+2
0	5	--	0.5,1	8.5,1	.2+1	1	---	7,1	0+0	6,1	8,1	---	0+15	1	7,1	8,1	.9+31
	<u>in vivo</u>	8.3	9	10	10+	1.7+	7.1	8.5	9	9+	1.9+						

I : Indica qu los explantes no pudieron evaluarse en su desarrollo por presentar deformaciones o anomalidades como: callo; alargamiento de primordios florales; deshidratación de primordios florales; anqueamientos del ápice.

MG: Máxima Ganancia del desarrollo observado en cultivo in vitro.

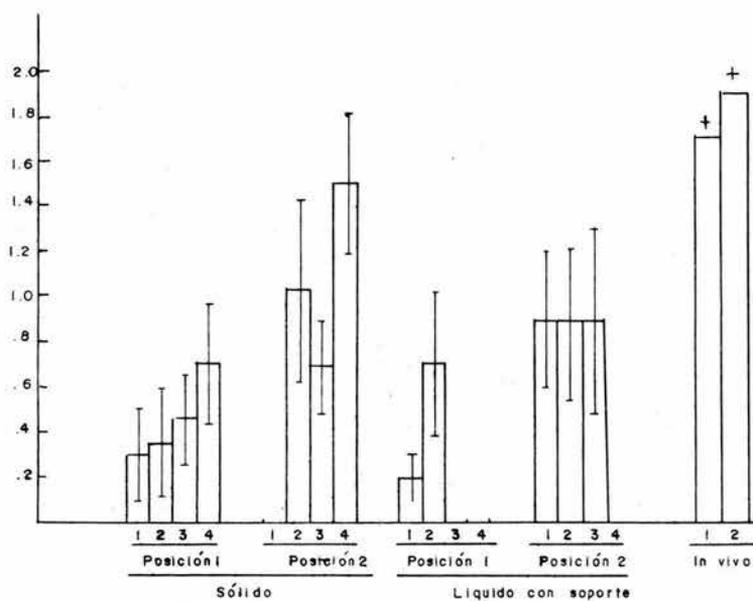


Figura 16 : Máximas Ganancias (MG) de desarrollo floral en jilotes de las posiciones 1 y 2 cultivados en dos medios de cultivo.

1) Control; 2) BA; 3) AIA; 4) BA-AIA.



Figura 17: Jilote cultivado en medio sólido de 2a. posición, en Ba (5 mgL⁻¹) de plantas con 15 hojas liguladas a 30 días de cultivo in vitro. Etapa 5 IA. La mitad inferior del explante con deformidades, y la mitad superior probablemente en la etapa 41 (F+G).



FIGURA 18 : Jilote cultivado en medio líquido con soporte de la primera posición en 5 mgL^{-1} de AIA, de plantas con 16 hojas liguladas, a 30 días de la siembra in vitro. Etapa probablemente en 6 IPIS. Se observa completamente deforme, presencia de callo y arqueamiento.

2.3 Tasas de Crecimiento Diario.

Se observó crecimiento en todos los tratamientos hormonales y en el testigo, así como en ambas condiciones físicas del medio de cultivo. Nuevamente se presentó una variabilidad muy alta dentro de los tratamientos, que restó importancia a las posibles diferencias entre los mismos.

La combinación hormonal de BA-AIA ($5-0.1 \text{ mgL}^{-1}$) tendió a mejorar notablemente el crecimiento de los jilotes con respecto al testigo en el medio sólido y en el líquido con soporte AIA a 0.1 mgL^{-1} (Cuadro 13).

En este caso es posible decir que estos dos tratamientos superaron consistentemente a lo observado en el control. Al comparar el crecimiento de los jilotes provenientes de plantas intactas v.s. jilotes experimentales se observó que ninguno de los tratamientos superó en crecimiento a los primeros (Figura 19). Por otra parte en el estado sólido se registró un menor incremento de las T.C.D. con respecto al estado líquido con soporte, en ambas posiciones (Cuadro 13, Figura 19).

3. Experimento 3

Se hizo con el objeto de probar el efecto de diferentes niveles hormonales de BA; AIA; AG_3 ; en el crecimiento y desarrollo de inflorescencias femeninas de maíz cultivadas in vitro en medio sólido y líquido con soporte, obtenidas de plantas de 15 a 16 hojas liguladas.

3.1 Oxidación

La oxidación se hizo presente en casi todos los tratamientos hormonales, así como en ambas posiciones y condiciones físicas del medio de cultivo. Comparativamente fue menor la oxidación, en términos de porcentaje en el líquido con soporte v.s. sólido, en los tratamientos que comparten ambos estados físicos también se observó esto (Cuadro 14). No obstante, tampoco fue posible distinguir con nitidez un tratamiento hormonal óptimo donde la oxidación se redujera o evitara (Figuras 20 y 21).

Cuadro 13 : Tasas de crecimiento diario ($\mu\text{m}/\text{día}$) de las inflorescencias femeninas de maíz, sembradas in vitro en las dos primeras -- posiciones en sentido apical-basal. Datos tomados entre los 10 y 30 días.

BA	TRATAMIENTO (mgL^{-1})	AIA	TASAS DE CRECIMIENTO DIARIO ($\mu\text{m}/\text{día}$)					
			SOLIDO			LIQUIDO CON SOPORTE		
			POSICION 1	POSICION 2	\bar{x}	POSICION 1	POSICION 2	\bar{x}
0	0	0	453 [±] 46	50 [±] 29	251 [±] 38	1194 [±] 87	318 [±] 39	756 [±] 63
1	0	0	864 [±] 52	404 [±] 38	634 [±] 45	92 [±] 51	641 [±] 21	566 [±] 36
5	0	0	908 [±] 71	795 [±] 61	852 [±] 66	272 [±] 42	218 [±] 63	245 [±] 53
		\bar{x}	886 [±] 61.5	600 [±] 50		182 [±] 47	430 [±] 42	
0	0.1	0.1	325 [±] 15	181 [±] 16	253 [±] 15.5	1580 [±] 19	946 [±] 3	1263 [±] 11
0	5	5	258 [±] 7	587 [±] 21	422 [±] 14	550 [±] 6	399 [±] 19	475 [±] 13
		\bar{x}	292 [±] 11	384 [±] 19		1065 [±] 13	673 [±] 11	
5	0.1	0.1	1028 [±] 28	235 [±] 20	631 [±] 24	868 [±] 21	293 [±] 21	581 [±] 21
		\bar{x}	639 [±] 6.5	375 [±] 14		826 [±] 47.6	469 [±] 37	
	<u>in vivo</u>		1412 [±] 16	221 [±] 14		1412 [±] 16	221 [±] 14	

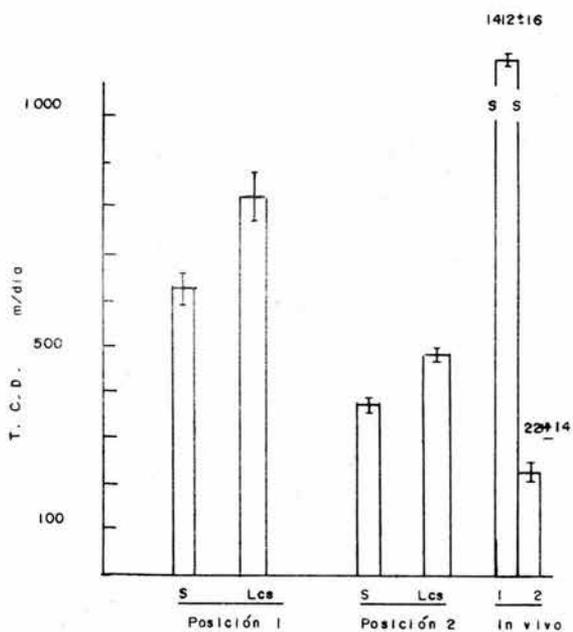


Figura 19 : Tasas de crecimiento diario por condición física del medio de cultivo y por posición (T.C.D.). S: Sólido; Lcs: Líquido con soporte. Expresado en micrómetros por día, datos tomados entre 10 y 30 días.

CUADRO 14: Porcentaje promedio de oxidación en inflorescencias femeninas de maíz de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal cultivadas in vitro en medio sólido y líquido con soporte. Datos tomados entre los 10 y 30 días.

Tratamiento			PROMEDIO DE OXIDACION (%)					
BA	AIA	AG ₃ (mgL ⁻¹)	S O L I D O			LIQUIDO CON SOPORTE		
			POSICION 1	POSICION 2	\bar{X}	POSICION 1	POSICION 2	\bar{X}
0	0	0	16+4	33.3+16	24.6+10	0+6	0+4	0+5
1.25	0	0	0+4	54.2+20	27.1+12	-----	-----	-----
0	0.125	0	25+16	23.3+2	24.1+6	-----	-----	-----
6.25	0.125	0	8.3+7	41.6+16	24.9+11.5	-----	-----	-----
1.25	0	1.25	25+12	31.9+7	28.4+8.5	-----	-----	-----
0	0.125	1.25	8.3+6	20.8+10	14.5+8	-----	-----	-----
6.25	0	1.25	0+6	33.3+12	16.6+9	-----	-----	-----
0	0	1.25	25+16	8.3+2	16.6+9	-----	-----	-----
1	0	0	16.6+7	25+2	20.8+4.5	0+7	8.3+8	4.1+7.5
0	0.1	0	16.6+8	0+3	8.3+5.5	8.3+5	33.3+15	20.8+10
5	0.1	0	8.3+5	0+10	4.1+7.5	0+6	25+10	12.5+8
0	0.1	1	16.6+10	0+9	8.3+9.5	8.3+2	0+7	4.1+4.5
5	0	1	41.6+31	33.3+5	37.4+18	8.3+3	0+6	4.1+1
0	0	1	0+2	16.6+8	8.3+5	33.3+7	0+8	16.6+7.5
1	0.2	1	0+4	16.6+6	8.3+5	16.6+9	0+2	8.3+5.5
		\bar{X}	13.82+8.8	22.5+8.53		9.3+5.6	8.3+7.5	
		$\bar{\bar{X}}$	18.1+8.6			8.1+6.1		

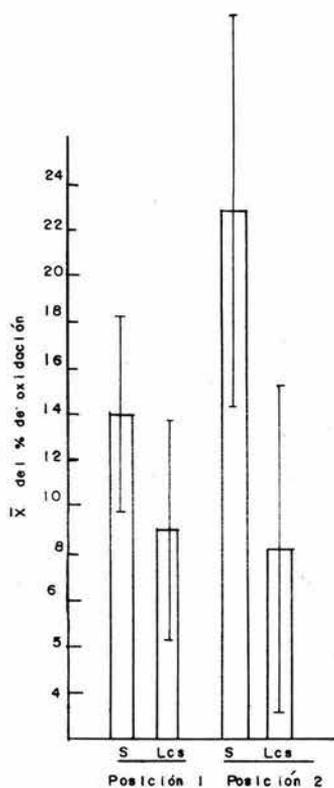


Figura 20 : Porcentaje promedio de oxidación física y posición. S : Sólido ; Lcs : Líquido con soporte. Datos tomados entre 10 y 30 días.

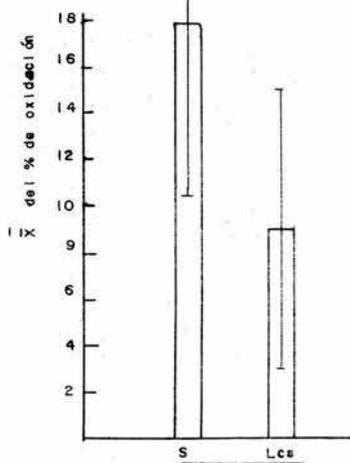


Figura 21 : Porcentaje promedio de oxidación por condición física del medio de cultivo. Datos tomados entre 10 y 30 días. S : Sólido ; Lcs : Líquido con soporte.

3.2. Etapas de desarrollo.

En este experimento las anomalías en los explantes se presentaron en el medio sólido a partir de los primeros 20 días de cultivo, y en el líquido con soporte desde los primeros 10 días (Cuadro 15). Curiosamente los explantes cultivados en el control no mostraron anomalías en los dos estados físicos del medio de cultivo ni en las dos posiciones.

En el desarrollo de los jilotes, la segunda posición mostró una mayor ganancia en desarrollo reproductivo en comparación con la primera posición, sin embargo las anomalías en la segunda posición fueron más frecuentes. Como en casos anteriores ningún tratamiento hormonal logró igualar las ganancias en desarrollo observadas en plantas intactas, no obstante esta última afirmación los jilotes de segunda posición del estado sólido (BA-AIA) y en el líquido con soporte (AG₃, BA-AIA y BA-AG₃) mostraron una ganancia que superó en poco a la observada en plantas intactas (Figura 22 y 23).

Debe agregarse que en este experimento las plantas de invernadero sufrieron una plaga por pulgón (áfidos) y acame; aunque la plaga se controló con insecticidas, es seguro que estos factores afectaron los resultados obtenidos. Así mismo en éste hubo una cantidad mayor de unidades experimentales contaminadas por hongos y bacterias, lo que redujo el número de repeticiones.

Por último, es difícil definir una combinación hormonal y dosis de ésta que se comporte favorablemente para estimular el progreso en etapas de desarrollo.

Sin embargo es nuevamente en el control y en los tratamientos con BA donde el desarrollo se mantiene menos alterado, es decir, menos anomalías que permiten reconocer etapas de desarrollo por un mayor tiempo, especialmente en el medio sólido, donde además la forma cónica del jilote se conservó mejor.

3.3. Tasas de Crecimiento Diario.

En esta variable también se observó una alta heterogeneidad de los resultados entre tratamientos, ya que hubo tasas negativas. Ello se atribuyó principalmente a la variación en los tamaños de los explantes y a que los datos se tomaran en diferentes siembras, al igual que en experimentos anteriores, es decir estos resultados confirman la necesidad de analizar el crecimiento

CUADRO 15 : Etapas de desarrollo de inflorescencias femeninas de maíz cultivadas *in vitro* en medio sólido y líquido con soporte de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal. Datos tomados entre los 10 y 30 días.

Tratamiento		AG ₃	ETAPAS DE DESARROLLO																			
			Sólido										Líquido con soporte									
			POSICION 1					POSICION 2					POSICION 1					POSICION 2				
			D I A S					D I A S					D I A S					D I A S				
AB	AIA (mgL ⁻¹)		0	10	20	30	MG	0	10	20	30	MG	0	10	20	30	MG	0	10	20	30	MG
0	0	0	8.4	8.7	8.5	8	.3 ₊ .2	7.5	6.8	5.3	7.2	0 ₊ 0	8.4	9	9	8	.6 ₊ .2	7.5	6.5	6.5	6	0 ₊ 0
1.25	0	0	8.1	7.7	8.3,I	7	.2 ₊ .2	7.4	6.8	6.7	8.5	1.1 ₊ .6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0	0.125	0	7	7.5	7.3,I	9,I	.2 ₊ .1	7.4	6.5	6.8	6.3	0 ₊ 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6.25	0.125	0	9	7.7	9,I	8.5,I	0 ₊ 0	6.6	6.6	8,I	8.5	1.9 ₊ .8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1.5	0	1.25	8.5	7	7.5	8,I	0 ₊ 0	6	6.2	6.5	7,I	1.5 ₊ .5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0	0.125	1.25	8.5	8.5	8.6,I	8.5,I	.1 ₊ 0	8	5.3	7	7,I	0 ₊ 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6.25	0	1.25	7.7	7.5	8,I	7.5	.5 ₊ .1	5.7	6	7,I	I	1.3 ₊ .4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0	0	1.25	6.5	8.1	9,I	-	2.5 ₊ .3	6.1	7.1	7.2	I	1.3 ₊ .6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	0	0	8	8	8,I	-	0 ₊ 0	6.7	8	8,I	I	1.3 ₊ .2	8.1	8.7,I	9	9,I	.9 ₊ .4	5.5	5.5	4.5	5.5	0 ₊ 0
0	0.1	0	8	6.7	-	8	0 ₊ 0	7.5	8	7.5	7,I	.5 ₊ .2	8	8.2	7.5	8,I	.2 ₊ .15	8	7.5	8	5	0 ₊ 0
5	0.1	0	7.8	9	-	7	1.2 ₊ .2	6.6	6.5	8	8,I	1.4 ₊ .7	7.8	8.5,I	9	9	1.2 ₊ .18	8.5	6.6	8.5	6.5	1.9 ₊ .1
0	0.1	1	8.1	8.3	8.2	9,I	.9 ₊ .3	6.7	6.5	I	6,I	0 ₊ 0	8.5	8.5,I	8.5	9	.5 ₊ .4	8	6.7	8	8	1.5 ₊ .1
5	0	1	8.8	7.5	5	8.5,I	0 ₊ 0	5.7	4.5	I	6,I	.3 ₊ .1	8.5	9,I	8.5	-	.5 ₊ .3	6.5	6	6.5	8.5	2.8 ₊ .9
0	0	1	7.8	5.5	-	8,I	.2 ₊ 0	6.1	6.5	6.7	5,I	.6 ₊ .3	7.8	8.2,I	9	8.5,I	1.2 ₊ .1	8	7	8	5	1.9 ₊ .9
1	0.2	1	8.3	5.5	-	8.5,I	1.2 ₊ .3	6.7	6	8	-	1.3 ₊ .4	7.2	8.5,I	8	8,I	1.2 ₊ .1	7.5	8	7.5	7.2	1.3 ₊ .4
<u>in vivo</u>			7.5	8.6	9.5	10	2.5	6.7	6.9	7.2	8.2	1.5										

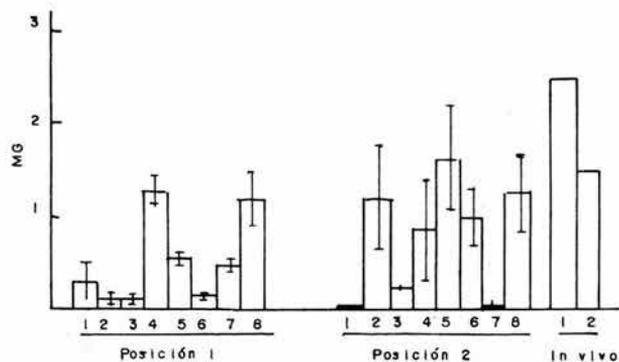


Figura 22 : Máximas Ganancias (MG) de las etapas de desarrollo en las dos posiciones en medio sólido. 1) Control; 2) BA; 3) AIA; 4) AG3; 5) BA-AIA; 6) BA-AG3 7) AIA-AG3; 8) BA-AIA-AG3. Datos tomados entre 10 y 30 días.

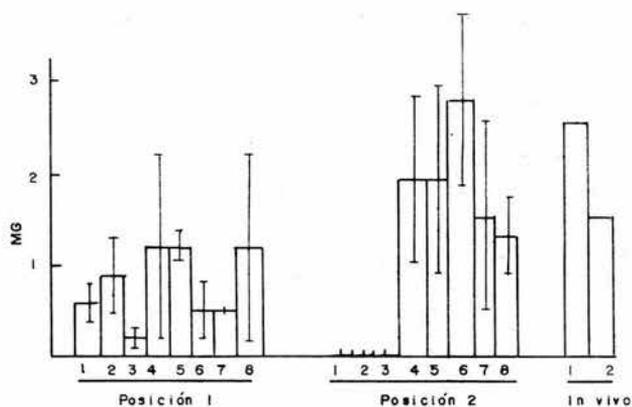


Figura 23 : Máximas Ganancias (MG) de desarrollo en las inflorescencias de las dos primeras posiciones en medio Líquido con soporte. 1)Control; 2) BA; 3) AIA; 4) AG3; 5) BA-AIA; 6) BA-AG3; 7) AIA-AG3; 8) BA-AIA-AG3. Datos tomados entre 10 y 30 días.

y desarrollo en el mismo explante durante todo el experimento, lo que implica el llevar a cabo subcultivos periódicos a medio fresco con al finalidad - de reducir el error en el muestreo (Cuadro 16).

4. Experimento 4 .

En este experimento se probaron ocho combinaciones hormonales de BA-AIA-AG₃ para evaluar su efecto sobre el crecimiento y desarrollo de las dos primeras inflorescencias femeninas de maíz en sentido apical-basal, obtenidas de plantas con 9 a 10 hojas liguladas y cultivados en los estados físicos sólido y -líquido con soporte (Experimentos 4a y 4b).

4.1. Experimento 4a: Estado físico: Sólido.

4.1.1. Oxidación.

Aunque el patrón de oxidación siguió tendiendo a la heterogeneidad, fue posi- ble identificar a los tratamientos: control, 0.5 mgL⁻¹ de AG₃; 2.5 mgL⁻¹ de BA; 0.01 mgL⁻¹ de AIA-AG₃, donde ésta fue mínima. La oxidación se presentó- en los tratamientos a partir de los 10 días y aparentemente no siguió aumen- tando (Cuadro 17). Por posición, el porciento de oxidación tendió a ser - menor en los explantes provenientes de la primera posición, pero la diferen- cia fue apenas del 3% (Figura 24). Estos resultados contradicen lo antes- afirmado, es decir, que la oxidación es menor en los tratamientos con mayor- dosis de AIA.

4.1.2. Etapa de Desarrollo.

Nuevamente se observó ganancia en el desarrollo floral expresado como Máxi- -mas Ganancias (MG). No obstante no hay una tendencia consistente entre -- los tratamientos hormonales. En este caso las anomalías en la posición- 1 se hicieron evidentes desde los primeros 10 días, situación que se repitió en la segunda posición (Cuadro 18). También se observó que la segunda posición tuvo una mayor actividad y una mayor ganancia en el desarrollo con- respecto a la primer posición. Sin embargo se ha expuesto anteriormente, - - las anomalías en la segunda posición aparecen más rápido que en la prime- ra. De la misma forma , es en la primer posición donde las etapas de desa- -rrollo se reconocen con mayor facilidad y por un periodo mayor.

CUADRO 16 : Tasas de crecimentodiario ($\mu\text{m}/\text{día}$) de las dos primeras inflorescencias femeninas de maíz en sentido apical-basal cultivadas in vitro. Los datos fueron tomados entre 10 y 30 días.

BA	Tratamiento		TASAS DE CRECIMIENTO DIARIO ($\mu\text{m}/\text{día}$)					
	AIA (mgL^{-1})	AG ₃	POSICION 1					
			SOLIDO	LIQUIDO CON SOPORTE	\bar{X}	SOLIDO	LIQUIDO CON SOPORTE	\bar{X}
0	0	0	-194 _{±20}	-115 _{±62}	-155 _{±41}	114 _{±70}	-184 _{±30}	-35 _{±50}
1	0	0	700 _{±36}	-108 _{±10}	296 _{±23}	460 _{±27}	181 _{±20}	321 _{±23.5}
1.25	0	0	776 _{±100}	- -	776 _{±100}	65 _{±29.3}	- -	65 _{±29.3}
0	0.125	0	352 _{±68}	- -	352 _{±68}	-94 _{±38}	- -	-94 _{±38}
0	0.1	0	-565 _{±77}	-267 _{±101}	-416 _{±89}	106 _{±47}	-317 _{±67}	-106 _{±57}
0	0	1.25	748 _{±15}	- -	748 _{±15}	570 _{±221}	- -	570 _{±221}
0	0	1	-663 _{±62}	-390 _{±29}	-527 _{±46}	151 _{±61}	35 _{±3}	93 _{±32}
6.25	1.25	0	272 _{±31}	- -	272 _{±31}	233 _{±76}	- -	233 _{±76}
5	0.1	0	-685 _{±43}	-131 _{±67}	-408 _{±55}	409 _{±42}	68 _{±22}	239 _{±32}
0	0.125	1.25	703 _{±33}	- -	703 _{±33}	85 _{±37}	- -	85 _{±37}
0	0.1	1	-551 _{±69}	-170 _{±93}	-361 _{±81}	400 _{±30}	-9.3 _{±3}	195 _{±16.5}
1.25	0	1.25	-300 _{±20}	- -	-300 _{±20}	131 _{±15}	- -	131 _{±15}
6.25	0	1.25	84 _{±13}	- -	84 _{±13}	531 _{±98}	- -	531 _{±98}
5	0	1	-634 _{±29}	-370 _{±29}	-502 _{±29}	1049 _{±62}	-53 _{±14}	498 _{±38}
1	0.2	1	-300 _{±79}	-140 _{±37}		237 _{±62}	-89 _{±21}	74 _{±42}
	<u>in vivo</u>		-----	833 _{±16}	-----	-----	210 _{±21}	-----

CUADRO 17: Porcentajes de oxidación en inflorescencias femeninas de maíz de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal en medio sólido cultivadas in vitro. Datos tomados entre - - 10 y 20 días.

Tratamiento			PROMEDIO DE OXIDACION (%)		
BA	AIA (mgL ⁻¹)	AG ₃	POSICION 1	POSICION 2	\bar{x}
0	0	0	0 \pm 2	2.25 \pm 1.5	1.1 \pm 1.75
0	0	0.5	0 \pm 1.5	0 \pm 1.7	0 \pm 1
2.5	0	0	0 \pm 3	0 \pm 6	0 \pm 4
0	0.01	0	0 \pm 0	0 \pm 2	0 \pm 1.7
2.5	0.01	0.5	20 \pm 3	21.9 \pm 5	21 \pm 1
2.5	0	0.5	16.6 \pm 5	35.7 \pm 9.2	26.2 \pm 7.1
0	0.01	0.5	22.9 \pm 3-8	25 \pm 7	24 \pm 5.4
5	0	0.5	7.3 \pm 4	8.6 \pm 3	8 \pm 3.5
		\bar{x}	8.4 \pm 2	11.7 \pm 6.2	10 \pm 4.1

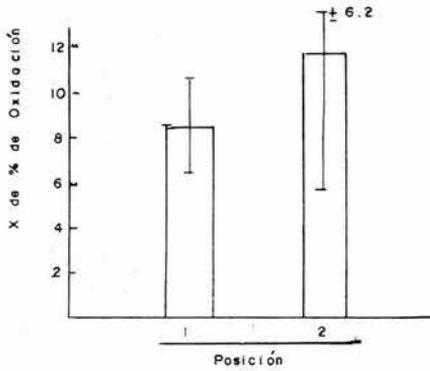


Figura 24: Porcentajes promedio de oxidación por posición en medio sólido.

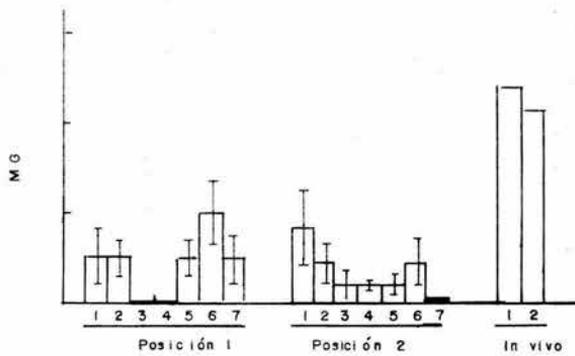


Figura 25: Máximas Ganancias (MG) de las etapas de desarrollo en medio sólido. 1) Control; 2) BA; 3) A1A; 4) AG3; 5) BA-AG3; 6) A1A-AG3; 7) BA-A1A-AG3.

Cuadro 18 : Determinación de la etapa de desarrollo de inflorescencias femeninas de maíz, de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal cultivadas in vitro en medio sólido. Datos tomados entre 10 y 20 días.

Tratamiento			ETAPA DE DESARROLLO							
BA	AIA (mgL ⁻¹)	AG ₃	P O S I C I O N 1				P O S I C I O N 2			
			D I A S				D I A S			
			0	10	20	MG	0	10	20	MG
0	0	0	4.5	5	1 \pm .6	4.7,I	3.5,I	1.7 \pm .8		
2.5	0	0	5	5	1 \pm .4	3.5	4	1 \pm .4		
0	0.01	0	4,I	3.7,I	0 \pm 0	3.5,I	3.5,I	.5 \pm .3		
0	0	0.5	3.5,I	4,I	0 \pm .2	3.5,I	3.5,I	.5 \pm .2		
2.5	0	0.5	4,I	4,I	0 \pm 0	3,I	3,I	0 \pm 0		
5	0	0.5	6,I	4.5,I	2 \pm .8	3.7,I	4,I	1 \pm .5		
0	0.01	0.5	4.1,I	6,I	2 \pm .7	4,I	4,I	1 \pm .5		
			4			3				
2.5	0.01	0.5	5,I	4,I	1 \pm .5	3,I	3,I	0 \pm 0		
	<u>in vivo</u>		4	6.7	8.9	4.9	3	4.7	7.4	4.4

I : Indica que los explantes no pudieron evaluarse en su desarrollo por presentar deformaciones o anomalías como: callo; alargamiento de primordios florales; deshidratación de primordios; arqueamiento del - - ápice.

MG: Máxima Ganancia del desarrollo en cultivo in vitro.

Es posible que al estar los explantes de segunda posición en una etapa de menor desarrollo sean capaces de lograr más cambios que los de primer posición ya que se ha visto que las ganancias en desarrollo se observan mejor y ocurren con mayor frecuencia en los explantes de esta posición. (Cuadro 18, -- Figura 25).

4.1.3. Tasas de Crecimiento Diario.

No obstante la evidente variabilidad entre los tratamientos, que minimizó los posibles efectos de estos (Cuadro 19), se observó que en la posición 1 hubo un mayor incremento en las T.C.D., con respecto a la segunda posición (Figura 26) principalmente en los tratamientos AIA-AG₃ y BA-AG₃, existiendo una tendencia a aumentar la T.C.D., cuando se aumenta la dosis de AG₃ (Cuadro - 19 Figura 26), por otro lado estos tratamientos superaron notoriamente al control en ambas posiciones.

4.2. Experimento 4 b. Estado físico: Sólido y Líquido con soporte.

4.2.1. Oxidación.

En este experimento se emplearon los tratamientos hormonales que anteriormente dieron los menores porcentajes de oxidación.

Aquí se logró impedir la oxidación en los tratamientos con BA (Experimentos 4a y 4b) mientras que los tratamientos con AIA-AG₃ presentaron oxidación -- con respecto al control (Cuadro 20).

Por posición, en la primera el mayor porcentaje de oxidación se encontró en el medio líquido con soporte, mientras que para la segunda posición ocurrió en el medio sólido (Figura 27). No se detectaron diferencias apreciables entre las dos posiciones del jilote en cuanto a oxidación.

Cuadro 19 : Tasas de crecimiento diario (μ m/día) de las inflorescencias femeninas de maíz sembradas in vitro en medio sólido de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal. Datos tomados entre 10 y 20 días.

BA	ATA	Tratamiento AG ₃	TASAS DE CRECIMIENTO DIARIO (μ m/día)	
			POSICION 1	POSICION 2
0	0	0	198 ± 61	253 ± 51
2.5	0	0	448 ± 34	480 ± 44
0	0.01	0	713 ± 25	88 ± 52
0	0	0.5	233 ± 45	181 ± 27
2.5	0	0.5	315 ± 72	603 ± 28
5	0	0.5	1479 ± 33.3	675 ± 54
			897 ± 53	639 ± 41
0	0.01	0.5	538 ± 60	860 ± 49
			\bar{x}	699 ± 55
2.5	0.01	0.5	363 ± 61	330 ± 58
			538 ± 49	434 ± 45
			\bar{x}	347 ± 60
			----- 1455 ± 19 -----	----- 775 ± 13 -----
<u>in vivo</u>				

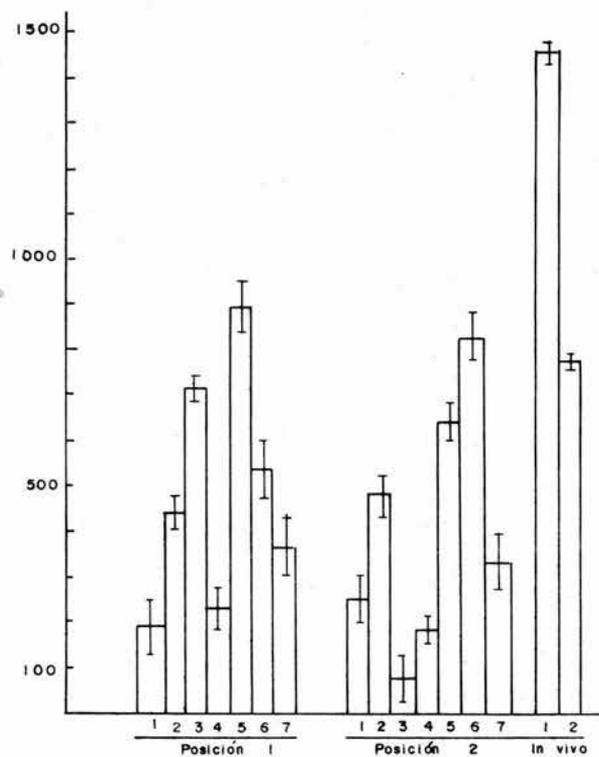


Figura: 26: Tasas de crecimiento diario (T.C.D.), expresadas en micrómetros por día, por posición. Datos tomados entre 10 y 20 días cultivados en medio sólido. 1) Control; 2) BA; 3) A1A; 4) AG3; 5) BA-AG3; 6) A1A-AG3; 7) BA-A1A-AG3.

CUADRO 20 : Porcentajes promedio de oxidación de inflorescencias femeninas de maíz de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal en medio sólido y líquido con soporte cultivadas in vitro Datos tomados entre 5 y 20 días.

Tratamiento			PROMEDIO DE OXIDACION (%)					
BA	AIA	AG ₃	POSICION 1			POSICION 2		
(mgL ⁻¹)			SOLIDO	LIQUIDO CON SOPORTE	\bar{x}	SOLIDO	LIQUIDO CON SOPORTE	\bar{x}
0	0	0	4.85 ₊₃	11.1 _{+2.7}	8 _{+2.8}	2.76 ₊₃	0 + 0	1.4 _{+0.8}
2.5	0	0	0 ₊₀	0 ₊₀	0 ₊₀	0 ₊₀	0 + 0	0 ₊₀
0	0.01	0.5	8.3 _{+6.7}	9.4 _{+5.72}	14 _{+6.21}	30.3 _{+5.8}	14.5 _{+ 5.2}	22.4 _{+5.5}
		\bar{x}	4.0 _{+2.0}	6.8 _{+2.31}	7.3 _{+2.6}	11.0 _{+3.8}	4.8 _{+2.8}	8 _{+3.5}

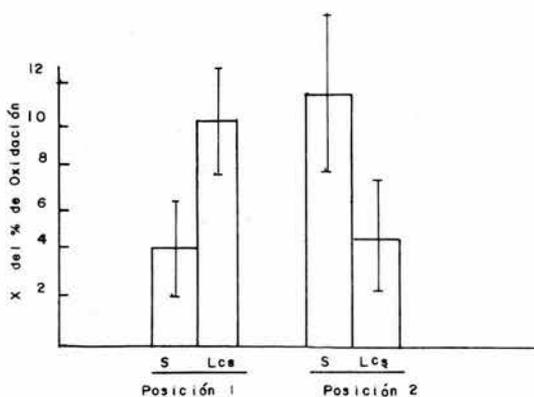


Figura 27: Porcentajes promedio de oxidación en medio; sólido (S) y líquido con soporte (Lcs), para ambas posiciones entre 5 y 20 días.

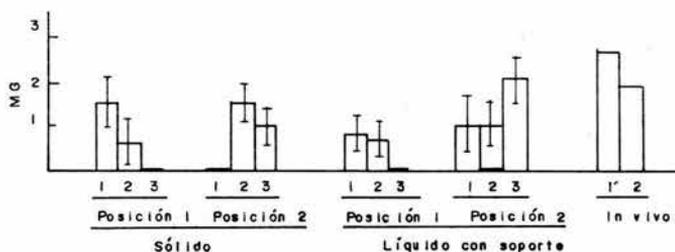


Figura 28: Máximas Ganancias (MG) del desarrollo en los diferentes tratamientos hormonales en ambas posiciones y para los dos estados físicos entre 5 y 20 días. 1) Control; 2) BA; 3) A1A-A03.

2.2. Etapas de desarrollo.

Aunque se registraron ganancias en el desarrollo (MG) (Cuadro 21), no hubo consistencia en los resultados entre los tratamientos hormonales, ya que mientras en el tratamiento $0.01 - 0.5 \text{ mgL}^{-1}$ de AIA-AG₃ en la primera posición del medio sólido, las anomalías se hicieron evidentes desde los primeros 5 días de cultivo in vitro, mientras que en los jilotes de segunda posición, en el mismo medio de cultivo, las anomalías se presentaron hasta 20 días después.

En esta ocasión no se observó que la segunda posición fuera más activa en cuanto a cambios en el desarrollo, como había estado ocurriendo en los experimentos anteriores (Figura 28).

Se puede apreciar que los tratamientos con BA y el control pudieron permanecer por más tiempo con estados de desarrollo reconocibles. Por esta razón se piensa que las deformidades ocurren independientemente de la condición física del medio de cultivo y de la posición del explante, y que éstas están más relacionadas con la condición propia del explante y del manejo durante la siembra.

En cambio las anomalías que se presentan en los explantes tratados con AIA y AG₃ parecen estar relacionados con el tipo de hormona y su efecto que causa en los primordios de florecillas.

2.3 Tasas de Crecimiento Diario.

Las T.C.D., dadas en micras por días (Cuadro 22) presentaron diferencias notables entre los estados físicos del medio de cultivo, teniéndose en el líquido con soporte incrementos que duplican prácticamente los valores registrados en el estado sólido en ambas posiciones (Figura 29); incluso llegan a superar los valores observados in vivo. En las presentes condiciones experimentales, los explantes provenientes de la segunda posición fueron ligeramente mayores a los explantes de la primera posición y los tratamientos que más favorecieron el incremento en los explantes fueron AIA-AG₃ y, en forma inconsistente BA, con respecto al control.

Cuadro 21 : Etapa de desarrollo de inflorescencias femeninas cultivadas in vitro en medio sólido y líquido con soporte de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal. Datos tomados entre los 5 y 20 días.

Tratamiento BA AIA (mgL ⁻¹)		ETAPA DE DESARROLLO																				
		AG ₃	POSICION 1									POSICION 2										
			SOLIDO					LIQUIDO CON SOPORTE				SOLIDO					LIQUIDO CON SOPORTE					
			DIAS					DIAS				DIAS					DIAS					
0	5	10	20	MG	0	5	10	20	MG	0	5	10	20	MG	0	5	10	20	MG			
0	0	0	3.5	3.3	4.5	1.5 ₊₅	3.8,I	3.5	I	.8 ₊₄	3	3.5	3.5,I	0 ₊₀	3.5,I	3,I	I	1 ₊₆				
2.5	0	0	3	4	3.6	I	.6 ₊₅	3	8.7,I	3.5,I	I	.7 ₊₄	2.5	I	4	3.5,I	1.5 ₊₄	2.5	3.3	3.5,I	I	1 ₊₅
0	0.01	0.5	I	I	I	0 ₊₀	3	I	I	0 ₊₀	3.5,I	3,I	I	1 ₊₄	4.5,I	3	I	2 ₊₅				
	<u>in vivo</u>		2.9	4	5	5.6	2.7								2.3	3.15	4	4.2	1.9			

I : Indica que los explantes no pudieron evaluarse en su desarrollo por presentar deformaciones o anomalías como: callo, alargamiento de primordios florales; - - deshidratación de primordios; arqueamiento del ápice.

MG : Máxima Ganancia del desarrollo observado en cultivo in vitro.

CUADRO 22: Tasas de crecimiento diario (μ m/día) de las inflorescencias femeninas de maíz de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal cultivadas en medio sólido y líquido con soporte. Datos tomados entre 5 y 20 días.

BA	Tratamiento		TASAS DE CRECIMIENTO DIARIO (μ m/día)					
	AIA	AG ₃	POSICION 1			POSICION 2		
	(mgL ⁻¹)		SOLIDO	LIQUIDO C/S	\bar{x}	SOLIDO	LIQUIDO C/S	\bar{x}
0	0	0	285+50	715+89	500+69	263+28	252+39	258+33
2.5	0	0	297+45	722+36	510+41	205+29	1108+36	657+33
0	0.01	0.5	445+25	825+56	635+41	467+12	1127+38	797+25
		\bar{x}	342+40	754+16		312+23	839+30	
		\bar{x}	548+50			571+30		
	<u>in vivo</u>			---- 300+21 ----			---- 183+11 ----	

Líquido c/s : Líquido con soporte.

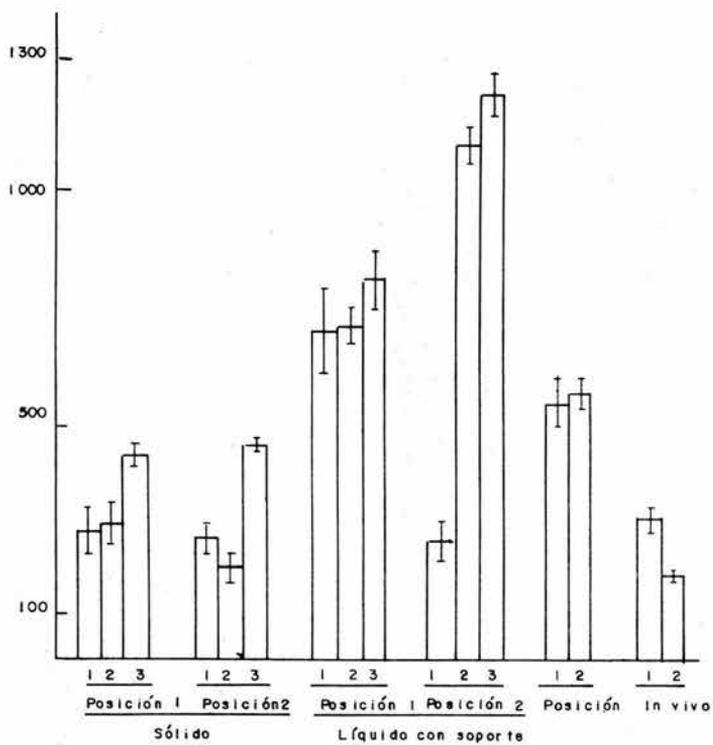


Figura 29 : Tasas de crecimiento diario expresadas en micrómetros por día, por tratamiento hormonal, posición, y estado físico del medio de cultivo, 1) Control; 2) BA ; 3) AIA-A03.

5. Experimento 5

Este experimento se hizo con la finalidad de dar seguimiento a los explantes in vitro, usando las mejores combinaciones hormonales de BA-AIA-AG₃ en el estado físico sólido con subcultivos a medio fresco, de explantes provenientes de plantas con 8 a 11 hojas liguladas.

5.1. Oxidación.

Los explantes provenientes de plantas con 8 a 11 hojas liguladas no presentaron señales de oxidación en ninguna posición y en ningún tratamiento (Cuadro 23).

5.2. Etapas de Desarrollo.

Los resultados obtenidos en este experimento indican que los tratamientos -- con AIA y AG₃ no impulsan el desarrollo floral, al menos en las dosis probadas, en las combinaciones hechas y en los estados de desarrollo de los explantes en experimentación, sino que promueven su crecimiento, pero con deformaciones como las antes señaladas. De hecho las Máximas Ganancias se lograron con el tratamiento control, seguido del tratamiento con BA; estos dos tratamientos fueron los que también presentaron menos anomalías en el desarrollo de los jilotes, permaneciendo por más tiempo reconocibles, principalmente los de la primer posición (Cuadro 24).

En la Figura 30 de Máximas Ganancias, es posible apreciar que en el control se reconoció un MG mayor que en el tratamiento con BA y que el tratamiento con AIA-AG₃ para ambas posiciones; aunque estos tratamientos no igualaron al desarrollo observado en explantes provenientes de plantas intactas.

Por tanto, un desarrollo floral satisfactorio in vitro de jilotes de maíz, similar al que ocurre en la planta intacta. Sólo fue posible identificar -- que el control y la BA permiten el reconocimiento de etapas de desarrollo -- con mayor claridad que el resto de las combinaciones hormonales utilizadas durante toda la fase experimental. Ahora bien es importante aclarar que los cambios observados sólo fueron en porciones de los explantes y no en su totalidad como se hubiese deseado.

CUADRO 23: Porcentajes promedio de oxidación en inflorescencias femeninas de maíz en las dos primeras posiciones en sentido apical-basal cultivadas in vitro en medio sólido. Datos tomados entre los 5 y 20 días.

Tratamiento			PROMEDIO DE OXIDACION (%)	
BA	AIA	AG ₃	POSICION 1	POSICION 2
(mgL ⁻¹)				
0	0	0	0 ± 0	0 ± 0
2.5	0	0	0 ± 0	0 ± 0
0	0.01	0.5	0 ± 0	0 ± 0
0	0.1	1	0 ± 0	0 ± 0

CUADRO 24 : Etapa de desarrollo de inflorescencias femeninas de maíz cultivadas in vitro en medio sólido de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal. Datos tomados entre 5 y 20 días.

Tratamiento			ETAPA DE DESARROLLO											
BA	AIA	AG ₃	POSICION 1						POSICION 2					
(mgL ⁻¹)			0	5	10	15	20	MG	0	5	10	15	20	MG
0	0	0	2.9	3.2,I	3.6,I	3.7,I	4.5,I	1.6±.38	2.7	2.9,I	3.6,I	3.7,I	I	1±.47
2.5	0	0	3	3.7	3.8,I	3.8,I	I	.8±.45	2.7	3.3,I	I	I	I	.6±.51
0	0.01	0.5	3	3	I	I	I	0±0	2.7	2.9,I	I	I	I	.2±.4
0	0.1	1	3.3	3.4	3.7,I	I	I	.4±.51	2.5	2.8,I	I	I	I	.3±.2
	<u>in vivo</u>		4	5	6.9	7.5	8.9	4.9	3.1	3.6	5.8	6.6	7.5	4.4

MG: Máxima Ganancia en el desarrollo observado en cultivo in vitro .

I: Indica que los explantes no pudieron evaluarse en su desarrollo por presentar deformaciones o anomalías como: callo; alargamiento de primordios florales; deshidratación de primordios; arqueamiento del ápice.

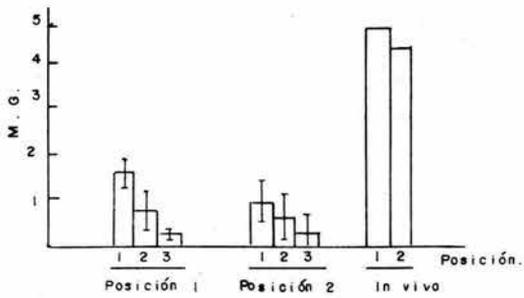


Figura 30 : Máximas Ganancias (MG) de desarrollo en inflorescencias femeninas de segunda y primera posición en medio sólido entre 5 y 20 días. 1) Control; 2) BA; 3) AIA-AG3.

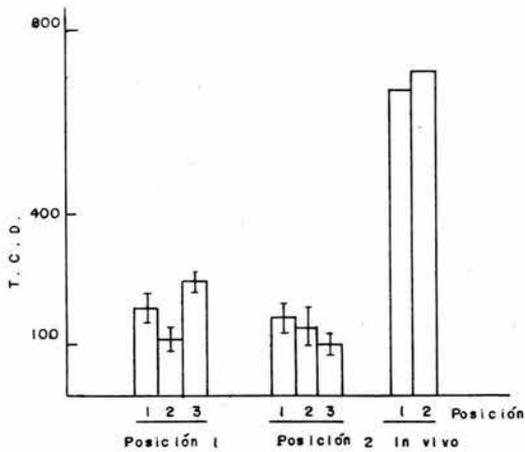


Figura 31 : Tasas de crecimiento diario, expresado en micrómetros por día, por tratamiento y posición en medio sólido, datos tomados entre 5 y 20 días. 1) Control; 2) BA; 3) AIA-AG3.

3 Tasas de Crecimiento Diario.

Las tasas de Crecimiento Diario registradas en este experimento fueron parecidas a las observaciones en los dos experimentos anteriores (Cuadro -- 25). En la Figura 31 se observa que en la posición 1 el tratamiento $0.01 - 5.05 \text{ mgL}^{-1}$ de AIA- Ag_3 , promovió el mayor crecimiento en relación con -- los demás tratamientos hormonales, incluyendo el control, lo mismo ocurrió en los jilotes de la segunda posición.

No obstante, el mayor crecimiento inducido con la hormona AIA combinada con Ag_3 estuvo desacoplado del desarrollo floral, ya que éste se dió mejor en el control, y el tratamiento con BA.

CUADRO 25 : Tasas de crecimiento (μ m/día) de las inflorescencias femeninas de maíz de las dos primeras posiciones en sentido apical-basal in vitro en medio sólido. Datos tomados entre 5 y 20 días.

Tratamiento			TASAS DE CRECIMIENTO DIARIO (μ m/día)		
BA	AIA	AG ₃	POSICION 1	POSICION 2	\bar{X}
(mgL ⁻¹)					
0	0	0	196 \pm 27	176 \pm 29	186 \pm 28
2.5	0	0	142 \pm 28	150 \pm 40	146 \pm 34
0	0.01	5	293 \pm 20	302 \pm 20	298 \pm 20
0	0.1	1	389 \pm 26	-158 \pm 31	116 \pm 28.5
		\bar{X}	255 \pm 24	118 \pm 25	
		<u>in vivo</u>	685 \pm 29	720 \pm 10	

V. DISCUSION.

La principal dificultad encontrada en el cultivo in vitro de inflorescencias femeninas de maíz fue la ocurrencia de anomalías en los primordios de florecillas o flósculos.

Ahora bien, el hecho de haber tenido un amplio espectro tanto de etapas de desarrollo como de número de hojas liguladas y tamaño de los explantes pudo haber originado una serie de inconsistencias que se reflejaron en los datos, ocasionando que no se pudiera utilizar pruebas de estadística inferencial que demostraran la confiabilidad de lo observado, desde el punto de vista matemático, asimismo influyó de manera importante, para esta limitación, el hecho de haber tenido en un principio de la fase experimental muchos tratamientos hormonales, tres condiciones físicas del medio de cultivo (sólido, líquido con soporte y líquido sin soporte), tres posiciones del explante y posteriormente dos posiciones en sentido apical-basal, lo que causó que las repeticiones fueran insuficientes. Por ello el análisis se hizo calculando promedios del porcentaje de oxidación, Máxima Ganancia en el Desarrollo (MG) y Tasas de Crecimiento Diario - - - - (μ m/día) (TCD) así como el error estandar que son medidas propias de la estadística descriptiva (42).

Por último, el obtener resultados de explantes que no tuvieron seguimiento individual durante todo el experimento (exceptuando el último), influyó en sentido negativo, ya que hace difícil tener una idea nítida de los efectos que pudieran tener sobre el cultivo in vitro de estos explantes -- las condiciones experimentales probadas.

No obstante, los resultados son alentadores porque fue posible obtener --- avances en etapas de desarrollo y crecimiento de los explantes in vitro. Además se pudo determinar que de los tres estados físicos del medio sólido permite que los explantes mantengan un desarrollo reconocible por más tiempo, y también sostiene la forma cónica similar a la de los jilotes -- provenientes de plantas intactas, mientras que en el medio líquido con soporte esto no ocurrió, aunque sus incrementos en tamaño fueron notorios, -- lo mismo sucedió en el líquido sin soporte, pero con más anomalías, resultando inconvenientes en el cultivo in vitro de inflorescencias femeninas de maíz.

Respecto a las posiciones de los explantes en dirección apical-basal, la primera y segunda posición fueron capaces de mostrar cambios, tanto en el desarrollo como en el crecimiento in vitro, en contraste con la tercera posición que desde el inicio de la fase experimental mostró una respuesta muy pobre en el desarrollo y crecimiento en los tres estados físicos de cultivo, e incluso en las plantas intactas. De las dos primeras posiciones, la segunda respondió mejor que la primera a los cambios de desarrollo y crecimiento, seguramente por que se logró inhibir la dominancia apical a la que se encontraba sujeta en la planta, facilitándole la absorción de nutrientes del medio como de la acción de las hormonas, esto concuerda con la observación realizada por WADDINGTON, R.S., al proponer que el sistema de vástagos en los cereales es un claro ejemplo de dominancia apical, donde las auxinas juegan un papel coordinador en la inhibición correlativa de las yemas, y al eliminar la primer yema la segunda puede desarrollarse. No obstante en la primera posición los estados de desarrollo fueron más fácilmente identificables en todos los experimentos. Es importante destacar que los cambios observados en las dos primeras posiciones, en cuanto a etapas de desarrollo, se manifestaron en sólo algunos primordios de florecillas de todo el jilote.

Las anomalías observadas ocurrieron de la siguiente forma en la primera posición: Formación de callo en brácteas, porciones de tallo, en la totalidad del jilote y en los primordios; deshidratación de los flósculos (principalmente en los jilotes sembrados con la totalidad de las brácteas) elongación de estructuras parecidas a estilos (que posiblemente eran las paleas); formación de " granos en crecimiento de color verde " en explantes provenientes de plantas con 16 a 18 hojas liguladas. Los explantes provenientes de segunda posición presentaron anomalías similares, aunque -- con menor frecuencia la formación de " granos ". Los explantes provenientes de la tercera posición, normalmente se tornaron suaves o duros, los primordios de florecillas se alargaron, y generalmente después de 20 días de cultivo morían.

Retomando la condición física del medio de cultivo, las anomalías que se presentaron en los explantes cultivados en el medio sólido fueron; formación de callo en los primordios de florecillas, ensanchamiento de explante en la zona de corte; en el medio líquido con soporte, arqueamiento del ápice y del jilote en su totalidad semejando " ganchos ", deshidratación de los primordios de flósculos, alargamiento de las paleas (en jilotes cultivados con la totalidad de brácteas) y textura suave o dura.

En el líquido sin soporte, jilotes con textura suave o dura (los jilotes suaves posiblemente sufrieron fermentación debido a que no se mantuvo en agitación el medio, favoreciendo el crecimiento de bacterias anaerobias - en el explante y en el medio), arqueamiento tanto del ápice como del explante en su totalidad, alargamiento de los primordios y gran cantidad de primordios de florecillas deshidratadas.

Por otro lado fue posible observar que no es conveniente cultivar explantes de cualquier posición con la totalidad de sus brácteas ya que éstas - en la mayoría de los casos crecieron y el explante comunmente fue inhibido. Al sembrar los explantes sin brácteas fue posible en primer instancia, reconocer la etapa de desarrollo al momento de la siembra, evitar el desarrollo al momento de la siembra, evitar el desarrollo de las brácteas y obtener el crecimiento experimentado por los explantes y no el de las brácteas. Asimismo el obtener datos de varios explantes distintos en cada -- muestreo, incrementó la amplia variabilidad existente en los jilotes, pues es evidente que cada uno de ellos respondió en forma particular al cultivo in vitro aun cuando se encontraban en la misma etapa de desarrollo, tamaño aproximadamente igual y de un número similar de -- hojas liguladas. Esto no ocurrió en el experimento 5, donde se pudieron advertir resultados mucho menos heterogéneos.

En cuanto a los tratamientos hormonales, se observó la tendencia de que a medida que se aumentaba la auxina, la oxidación decrecía. Que la hormona BA permitió el desarrollo de los explantes más cercano al normal por un mayor período (en forma similar a la obtenida en el control). La combinación hormonal AIA AG₃ generalmente promovió incrementos notorios en las TCD, pero no en el desarrollo. Por lo anterior es difícil precisar una - dosis óptima, ya que es claro que algunas mejoran el crecimiento, y otras el desarrollo, dosis que además pueden variar con el tiempo o edad del explante. Polowick y su colaborador, en 1984, encontraron que la zeatina y la 6 Benziladenina favorecen el desarrollo del pistilo, lo que viene a reforzar las tendencias encontradas en este trabajo. No obstante lo encontrado por Raman et. al., en 1980, nos pone en contradicción, es decir, -- ellos observaron que el desarrollo de los vástagos axilares de maíz in vitro - se veía favorecido con la adición de auxinas a 3 mgL^{-1} , ésta última podía ser AIA o AIB. No obstante de haber fallado la BA y la zeatina en la - - promoción del desarrollo, se observaron en éstos tratamientos respuestas- interesantes de los explantes, por ejemplo; sólo se iniciaron 1 ó 2 brotes

no hubo elongación adicional y proliferación de diminutos vástagos secundarios o terciarios interpretados como diminutas inflorescencias femeninas-- al observarse al microscopio, la BA y la zeatina también tuvieron una concentración igual a la empleada para las auxinas.

En 1968, Bilderback, llevó a cabo un experimento en el que concluyó que - las substancias esenciales para la iniciación de carpelo son aún desconocidas, proponiendo que puede ser una fuente de nitrógeno orgánico, ácidos nucleicos u hormonas desconocidas, así como el factor edad del brote floral. El mismo, en 1972 observó que la cinetina no favorece la formación - de los órganos florales mientras que en un medio con AG_3 los sépalos, pétalos y carpelo se diferenciaron y los estambres abortaron. Mientras que en los tratamientos con AG_3 con y sin BA o AIA empleados en este trabajo - no favorecieron el desarrollo de las partes florales. Otro trabajo enfocado a estudiar la reversión sexual de la espiga masculina del maíz por medio de sustancias giberélicas, se determinó que están fuertemente involucradas sugiriéndose que las GA de naturaleza a altos niveles no polar favorecen la feminización, y bajos niveles la masculinización (Stewart, B. Rood., 1978).

En otro trabajo de regulación sexual, en cáñamo y espinaca, se observó que la regulación sexual por las fitohormonas es efectiva sólo en estados iniciales del desarrollo (Chailakhyan, 1980), tal como pudo determinarse - aquí, pues únicamente en los explantes provenientes de plantas con 8 a 12 hojas liguladas los cambios en etapas del desarrollo se llevaron a cabo y se observaron con mayor frecuencia y claridad.

En este mismo trabajo se determinó que la AG_3 favorecía la masculinización y que la BAP y AIA la feminización. Aunque estas tres hormonas se utilizaron en este trabajo, sólo la BA manifestó la tendencia a favorecer el desarrollo floral femenino así como el medio MS sin hormonas o control.

En el actualmente desarrollado " Modelo de Central Multifactorial de la - floración " se propone que varios factores la promueven o inhiben, y que están involucradas en el control de iniciación de la floración; se piensa que esto sucede sólo cuando todos los factores están presentes en el ápice en apropiadas concentraciones y en el momento adecuado. Mientras que los - fotosintatos y los reguladores del crecimiento vegetal pueden estar ausentes o presentes en cantidades infra o supra óptimas, por lo que cada uno - de los factores puede no actuar necesariamente en la misma dirección en todas las plantas.

Por otro lado debe considerarse la dificultad para reproducir in vitro la combinación de condiciones naturales necesarias para la inducción de cambios de desarrollo y crecimiento, ya que las condiciones de temperatura, humedad, intensidad luminosa, son difíciles de igualar in vitro.

El procedimiento seguido en el experimento 5, muestra una mejor manera de intentar igualar esas condiciones, y se piensa que puede ser la forma en que se deban seguir estudiando los procesos de crecimiento y desarrollo de esta clase de inflorescencias.

También se detectaron mejores resultados en cuanto al cambio de desarrollo, con explantes provenientes de plantas con 8 a 12 hojas liguladas, ya que en este momento se encuentran en los primeros estados de desarrollo floral y es precisamente en estos estados tempranos donde los cambios morfológicos se observan mejor y por lo tanto los factores que pueden estar participando en su desarrollo y crecimiento se pueden identificar con más precisión. En estados más tardíos se vió que los primordios experimentaban pocos cambios de desarrollo y que posteriormente sólo crecían (tal es el caso de las plantas con formación de granos con proyecciones similares a estilos) además de que las anomalías se reducían.

Es evidente que los reguladores del crecimiento van a ejercer una influencia que varía según la combinación hormonal y las dosis en que se encuentren, como es posible observarse en la revisión de literatura, llegando incluso a actuar a nivel de expresión de genes recesivos como en el caso de los brotes dobles o sencillos de Nigella damascena.

En los explantes cultivados con porciones de tallo o los de tercera posición, estos, como anteriormente se dijo, se tornaron suaves o duros adquiriendo tonos oscuros, como en los fragmentos de cotiledón de pino (29), donde estos adquirieron una consistencia dura y presentaba una coloración oscura, principalmente en la zona de corte. Además el medio también adquirió un tono oscuro, y se observó que conforme el número de trasplantes fue mayor, este efecto iba desapareciendo paulatinamente, como en el último experimento. La similitud encontrada en ambos resultados nos lleva a pensar que esta fue la razón por la que se presentaron texturas duras tanto en porciones de tallo como en explantes de posición 3, situación que no se presentó al hacer subcultivos.

Es importante hacer notar que en este trabajo se tomó la alternativa de probar explantes en diferentes estados de desarrollo, lo que nos dió una -

amplia gama de resultados que nos muestran las tendencias seguidas por explantes. Por otro lado hizo falta estimar el contenido endógeno de los reguladores del crecimiento por parte de las hojas, pues según Tanaka y Yamaguchi (1934) (37), en su trabajo de producción de materia seca, determinaron que de la décima hoja ligulada en adelante actúan decisivamente en la formación de mazorca (rendimiento del grano de maíz).

En cuanto al manejo de los explantes, es muy importante considerar una serie de detalles de los que dependerá la obtención de resultados cercanos a los real, pues la falla en éste altera la interpretación que se le den a los registros obtenidos. Tales detalles son: Manejo de los explantes al momento de ser depositados en los medios; se deben buscar condiciones no estresantes, es decir se debe evitar el calor excesivo por los mecheros, mantener una película de agua en las cajas petri que eviten deshidratación el equipo de disección debe de mantenerse estéril y tener buen filo las navajas, Asimismo, es muy importante el tener las plantas de maíz en el invernadero con las mejores condiciones de sanidad.

VI. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos es posible decir que el crecimiento y desarrollo de las inflorescencias femeninas de maíz de - - las primeras posiciones en sentido apical-basal se puede lograr bajo cultivo in vitro.

De las tres condiciones físicas de cultivo, se propone a la condición sólida como la que permite un desarrollo más cercano al normal y al estado líquido con soporte donde los incrementos en tamaño - - (T.C.D.) se vieron favorecidas en comparación con el primero. El estado líquido sin soporte provocó mayor oxidación y un alto grado de anormalidades, según las tendencias observadas en resultados.

Este medio posiblemente daría resultados positivos de mantenerse en agitación. pudiendo incluirse esta variante en una investigación futura.

Los explantes que mejor respondieron a las condiciones in vitro, fueron la de primera y segunda posición, los de tercera posición no son recomendables, debido a las anormalidades que presentan, además de - que generalmente mueren.

Los explantes deben provenir de plantas con 8 a 12 hojas liguladas, - pues es en éstas donde los cambios morfológicos asociados al desarrollo floral se detectan mejor.

Las mayores ganancias en desarrollo reproductivo de los jilotes con estados reconocibles y con menos anormalidades, ocurrieron en ausencia de hormonas y en tratamientos con la hormona **BA**, esta tendencia se vió en la concentración de (1 a 2.5. mgL^{-1}).

Como punto de partida para otra investigación, podría modificarse - los componentes inorgánicos del medio básico de **Murashige y Skoog**

(1962), principalmente en aquellos elementos que intervienen en el proceso de floración, como el calcio, boro y potasio. Así como probar otras concentraciones de la hormona BA, partiendo de las probadas en este trabajo.

Los mayores incrementos en los explantes, se dieron en la combinación de - - AIA-AG₃ en una concentración que en este trabajo sería muy aventurado determinar.

Las concentraciones hormonales utilizadas en este trabajo, no fueron las óptimas para promover el crecimiento y desarrollo de los primordios florales - femeninos de maíz, sólo se observaron tendencias .

El cultivo in vitro de jilotes con la totalidad de sus brácteas, ocasionó el desarrollo de éstas y no el de los explantes.

El método que mejor resultados proporcionó fue el que incluyó el seguimiento y subcultivo a medio fresco, de los jilotes de manera individual en condiciones asépticas.

Es importante y necesario estimar el aporte de hormonas y nutrientes por parte de las hojas liguladas superiores para tratar de igualar lo más posible -- las condiciones naturales.

VII. BIBLIOGRAFIA.

1. **Bernier, G. 1980.** The Control of floral Evocation and Morphogenesis. Ann. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol. 39: 125-129.
2. **Bilderback, E.D., Arnold, J. Karpoff and Stanford S. Tepfer. 1968.** De velopment of Excised Floral Buds of Aquilegia: The coconut-milk problem. Amer. J. Bot. 55 (9): - 1042 - 1046.
3. **Bilderback, E.D. 1972.** The Effects of Hormones Upon the Development of excised Floral Buds of Aquilegia. Amer. J. Bot. 59(5): 525-529.
4. **Bidwell, R.G.S., 1972.** 2a. ed. Fisiología Vegetal. A.G.T. Ed. S.A., México, D.F. Capítulo 23.
5. **Bommineni, V.R. and R.I. Greyson. 1987.** In vitro cultive of ear - shoots Zea mays L. and The effect of kinetin on -- sex expression. Amer. J. Bot. Vol. 74(6): 883-890.
6. **Bonnett, O.T., 1983.** Las inflorescencias de maíz, trigo, centeno y avena: Su iniciación y desarrollo. Universidad de --- Illinois-College of Agriculture. Estación de experimentación agrícola. Hemisferio Sur. Buenos Aires Argentina.
7. **Cronquist, A., 1984.** Introducción a la Botánica. 2a. ed. Cia. Ed. Continental. S.A. de C.V., México, D.F.
8. **Chailakhyan, M.Kh. and V.N. Khryanin. 1980.** Hormonal regulation of -- Sex Expression in plants. In F. Skoog (ed). Plant Growth Substances. Proceedings of the 10 th. International Conference on Plant Substances Spring-Verlag. New York. Pp. 331-334.

9. Cheng, P.C., R.I. Greyson and D.B. Walden. 1983. Organ initiation and the Development of unisexual flowers in the tassel ear of Zea mays. Amer. J. Bot. 70(3): 450-562.
10. Esau, K. 1965. Anatomy of Seed Plants. 2a. ed. John Wiley and Sons Inc. California, 550 p.
11. González H. V.A. 1977. Efecto de la temperatura sobre el desarrollo y crecimiento de sorgo para grano (Sorghum bicolor, - - Mouch). Tesis de Maestría, Colegio de Postgraduados, Chapingo. Méx. 94 p.
12. Hansen, D.J., S.K. Bellman, and R.M. Sacher. 1976. Gibberellic Acid-controlled Sex Expression of corn tassels. Crop-Science Vol. 16 May-June.
13. Hanway, J.J. and Steven W. Ritchie. Zea mays. In Handbook of Flowering. Abraham H. Halevy. Vol. 4. C.R.C. Press, 1985 525-540.
14. Kiesselbach, T.A. 1949. The Structure and Reproduction of Corn, Univ. Nebraska Expt. Stn. Res. Bull., No. 161.
15. Kipps, M.S. 1970. Production Field Crops. 6a. ed. Tata Mc. Graw-Hill. Publisehd. Bombay New Delhi. Chapter 12.
16. Logan, H.S., et. al., 1987. Agricultural Policy Implications of Biotechnology. California Agriculture. July-August. 20-21.
17. López, D.H., 1987. Efecto del ácido acetil salicílico en el crecimiento de yemas de Solanum cardiophyllum (Lindl.) Cultivados in vitro. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Centro de Genética. Montecillos, México.

18. **López, P.C. 1987.** Cultivo in vitro de inflorescencias femeninas de maíz. Colegio de Postgraduados. Centro de Genética. Seminario del personal académico, Otoño 1987. Resumen.
19. **Miranda, C.S. 1966** Discusión sobre el origen y la evolución del maíz. II Congreso Nacional de Fitogenética S.O.M.E.F.I. A.C. p. 233-252.
20. **Murashige, T. and F. Skoog. 1962.** A revised medium for rapid growth -- and bioassays with tobacco tissue culture.
21. **Oyervides, G.A. 1968.** Estudio de la importancia económica de tres caracteres morfológicos de maíz. Tesis de Maestría en - Ciencias. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. 115 p.
22. **Pareddy, D.R. AND R.I. Greyson 1985.** In vitro culture of immature tassels of an inbred field variety of Zea mays c.v. Oh. 43. Plant Cell. Tissue Culture. 5: 119-128,
23. **Polowick, P.L. and R.I. Greyson. 1984.** The relative efficiency of cytokinins in the Development of normal spikelets on cultured tassels of Zea mays. Can. J. Bot. Vol. 62: 830-834.
24. **R.E. Harris, R.H. Moll, and C.W. Stuber. 1976.** Control and inheritance of prolificacy in maize. Crop Science, Vol. 16 November-December.
25. **Raman, K. and R.I. Greyson. 1978.** Further Observations on the Differential Sensivities to plant growth regulators by-cultured "single and double" Flower buds of Nigella da mascena L. (Ranunculaceae). Amer. J. Bot. 65(2): 180-189.
26. **Raman, K., D.B. Walden and R.I. Greyson. 1980.** Propagation of Zea -- mays L. by shoot tip culture a feasibility study. Ann. Bot. 45: 183-189.

27. Robert, L.M. y Loyola V.M. 1985. El cultivo de tejidos vegetales en México. CONACyT. Capítulos; 1, 3, 4 y 5.
28. Robledo, P.A. 1987. Diferenciación de brotes adventicios en cotiledones de Pinus maximartinezzi R. Cultivados in vitro. Tesis de Licenciatura en Biología. Los Reyes Iztacala, Edo. de México.
29. S.A.R.H. 1982. Ciclos de Cultivos: Programa de las principales especies vegetales con las cuales se efectúa investigación- en México. SARH. INIA.
30. Salisbury and Parke. 1964. Fundamentals of Botany Series. U.S.A. 148-149.
31. Salisbury, F.B. 1978. Plant Physiology. 2a. ed. Belmont. C.A. p. 224-235.
32. Sandford, S. Tepfer, Richard I, Greyson, William R. Graig and Joseph L. Hindman. 1963. In vitro culture of floral buds of Aquilegia sp. Amer. J. Bot. Vol. 50 November-December.
33. Singh, B.K., and C.F. Jenner. 1983. Culture detached ears of wheat in liquid culture: Modification and Extension of the - method. Aust. J. Plant Physiol. 10: 227-236.
34. Sorrels, M.E., R.E. Harris, and J.H. Lonquist. 1978. Response of prolific and nonprolific maize to growth regulating chemicals. Crop Science. Vol. 18. September-October.
35. Stewart, B. Rood and Richard P. Pharis. 1980. Changes of endogenous -- Gibberellic-like substances with sex reversal of - the apical inflorescence of corn. Plant Physiol. 66: 793-796.
36. Tanaka, A., Yamaguchi J. 1984. Producción de Materia Seca: Componentes del rendimiento y rendimiento del grano en maíz.

- CP. Centro de Botánica, Chapingo, México.
120 p.
37. Tollenar, M. 1977. Sink-source relationships during reproductive development in maize. Department of Crop Science. University of Guelph, - Guelph Nig. Maydica. XXII: 49 - 75.
38. Toshio Murashige. 1979. Plant Tissue Culture and Its importance to Agriculture; Practical Tissue -- Culture Applications. Academic Press. P. 27-43. In Muramorsch Karl Hiroyomi. Ed.
39. Vázquez, V.S., Cristina, L.P. Y Victor, A.G.H. 1988. Establecimiento del cultivo in vitro de inflorescencias femeninas de maíz. Centro de Genética. Colegio de Postgraduados. Montecillos México. Resúmenes del XII Congreso Nacional de Fitotecnia. Chapingo, México.
40. Vidalié, H. 1986. Cultivo in vitro. Edit. Científica. México, - D.F. p. 9-21.
41. Waddington, R.S. 1983. Chemical Regulation of Grain Sink size in temperate cereals. Resumen de Tesis Doctoral, Chapingo, México.
42. Wayne, W.D. 1982. Bioestadística. Edit. Limusa. México, D.F. capítulo 1.

VIII. APENDICE

Anexo 1. Descripción del medio básico empleando las sales inorgánicas de Murashige y Skoog (1962), para el cultivo in vitro de inflorescencias femeninas inmaduras de maíz (*Zea mays*. L.)

NOMBRE DEL COMPUESTO	FORMULA	CANTIDAD POR LITRO (mgL ⁻¹)
Macronutrientes		
Nitrato de Amonio	NH_4NO_3	1650 mg
Nitrato de Potasio	KNO_3	1900 mg
Cloruro de Calcio	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440 mg
Sulfato de Magnesio	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370 mg
Fosfato de Potasio	KH_2PO_4	170 mg
Sulfato de Hierro	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8mg
Na ₂ EDTA	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37.3mg
Micronutrientes		
Acido Bórico	H_3BO_3	6.2 mg
Sulfato de Manganeso	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.3 mg
Sulfato de Zinc	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.6 mg
Yoduro de Potasio	KI	0.83 mg
Molibdato de Sodio	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25 mg
Sulfato de Cobre	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025mg
Cloruro de Cobalto	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025mg
Fuente de Carbono		
Azúcar comercial	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	30000 mg
pH.		5.8
Agar (Merck)		4.5 g