

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS
BIOLOGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISION DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
COORDINACION DE POSGRADO**



**DETERMINACIÓN DE DISTANCIAS GENÉTICAS Y
APTITUD COMBINATORIA EN LÍNEAS E HÍBRIDOS
TROPICALES DE MAÍZ (*Zea mays L*)**

J. Santos González Ledesma

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS

ZAPOPAN, JALISCO. NOVIEMBRE DEL 2007



La tesis “**DETERMINACIÓN DE DISTANCIAS GENÉTICAS Y APTITUD COMBINATORIA EN LÍNEAS E HÍBRIDOS TROPICALES DE MAÍZ (*Zea mays* L)**” “del C. J. Santos González Ledesma, se realizó bajo la dirección del Consejo particular que se indica, fue aprobada por el mismo y se aceptó como requisito parcial para la obtención del grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS AGRÍCOLAS Y FORESTALES

Consejo Particular

Tutor: _____ *Hugo Córdoba*

Dr. Hugo Salvaador Córdoba Orellana

Asesor: _____ *José Ron Parra*

Dr. José Ron Parra

Asesor: _____

Dr. José de Jesús Sánchez González

Asesor: _____

Dr. Rogelio Lépiz Ildefonso

Asesor: _____ *Luis Alfredo Márquez Cedillo*

Dr. Luis Alfredo Márquez Cedillo

Las Agujas Zapopan Jal., NOVIEMBRE 2007

Dedicatorias

A mis padres:

J. Santos González Duran y Carmen Ledesma Jáuregui

A Mi esposa:

Adriana Jiménez por su apoyo, comprensión y cariño siempre mostrado.

A mi hija:

Miriam González Jiménez que es mi fuente de inspiración

A mis Hermano y sobrinos,

De quienes he recibido su apoyo

Agradecimientos

A Dios nuestro Señor Por ayudarme en alcanzar una meta mas en mi vida.

A la Universidad de Guadalajara por la formación académica.

Al Doctor Hugo Córdova Orellana, por su ejemplo, por compartir sus conocimientos y sabiduría, por sus consejos y por ayudarme en el transcurso en mi formación como profesional.

Al Doctor Luís Márquez Cedillo, por la ayuda en la revisión y por su amistad

Al Doctor José Ron Parra por la asesorarme en este estudio.

Al Dr. Rogelio Lepiz Idelfonso por la revisión de este documento

Al Doctor José de Jesús Sánchez González por su ejemplo en esta profesión

A los investigadores que condujeron los ensayos:

Mario fuentes Guatemala, Román Gordón en Panamá, Antonio Ramírez, Mauro Sierra, Ernesto Cervantes, Evodio Cadenas en Mexico, Oscar Cruz en Honduras; Verónica Machado y Orlando Noldin en Paraguay

A mis compañeros, por el estímulo en continuar siempre hacia adelante

RESUMEN

En este estudio se evaluaron 45 híbridos de maíz de color amarillo de adaptación tropical en 15 localidades contrastantes durante el 2002- 2004; Utilizando quince líneas se formaron cuarenta híbridos tri-lineales y cuatro simples; los objetivos fueron: estimar ACG y ACE, estimar la diversidad genética y clasificar las líneas en base a sus Distancias Genéticas por medio de marcadores moleculares de secuencia simples repetidas (SSR), conocer el grado de correlación entre Distancias Genéticas y ACE, determinar los patrones de respuesta entre híbridos y ambientes, identificar los mejores híbridos triples y líneas para ser usados en programas de mejoramiento. Se encontró que existe una tendencia de asociación positiva entre DG, ACE y rendimiento en combinaciones específicas presentada en los mejores híbridos seleccionados. Sin embargo en varias cruzas existe baja asociación entre DG, ACE y rendimiento; esto se debe principalmente a que al evaluar en varias localidades y con ambientes tan diversos la tolerancia a factores abióticos y bióticos cobra mayor importancia. La estimación de diversidad genética con base a marcadores moleculares SSR nos ayudo a formar un patrón heterótico, el cual quedo conformado el lado A por CML 451 y en el lado B por CL-02450, CML 481, CL-02844, CL-02420, CL-RCY004, CL-RCY007, CL-IBP3002, CL-00392, CL-RCY014, CL-RCY005, CL-RCY018, CL-RCY017, CL-RCY015, CL-RCY016. Se estimaron análisis de estabilidad, ACG y ACE para rendimiento de grano a través de localidades. Se encontraron diferencias estadísticas ($p < 0.01$) para genotipos, ambientes, y ambientes por genotipos, lo que demuestra las diferencias entre ambientes y entre genotipos. Los ambientes se pudieron agrupar en dos mega ambientes de acuerdo al análisis de Componentes Principales. El híbrido triple CML451*CL-02450/ CL-RCY015 presentó la mayor estabilidad y excelente rendimiento. El híbrido con los efectos mas altos ACE es CML451 x CL-02450)/CL-RCYx13 mostrando buena estabilidad. El progenitor con los mejores efectos de ACG a través de ambientes fue el progenitor 10 (CL-RCYX13) con diferencias significativas ($p < 0.05$).

Se recomienda que el híbrido triple CML451*CL-02450/ CL-RCY015 sea usado a nivel comercial, así como los progenitores de este híbrido y la línea CL-RCYx13.

Índice

1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISION DE LITERATURA	4
2.1 Heterosis, Aptitud Combinatoria General y Aptitud Combinatoria Específica.....	4
2.2 Marcadores Moleculares	7
2.3 Interacción Genotipo-Ambiente	10
3. MATERIALES Y METODOS	12
3.1 Germoplasma:.....	12
3.2 Localidades y Diseño Experimental usado	15
3.3 Variables registradas.....	16
3.4 Modelo Estadístico para el Cálculo de la Aptitud Combinatoria (AC).....	17
3.5 Análisis de Estabilidad de rendimiento de grano	18
3.6 Estimación de Distancias Genéticas	19
4. RESULTADOS Y DISCUSION.....	23
5. CONCLUSIONES	41
6. BIBLIOGRAFIA	43

Lista de Cuadros y Figuras

Cuadro 1.1. Líneas de Germoplasma Tropical Amarillo	12
Cuadro 1.2 Cuatro cruzas simples usadas como Hembras y 10 líneas usadas como Macho	13
Cuadro 1.3 Cuarenta y cinco híbridos que lo comprenden 40 cruzas triples, 4 cruzas simples y un híbrido comercial	14
Cuadro 1.4 Ambientes de evaluación de las cruzas de los diferentes grupos heteróticos y algunas características geográficas.	15
Cuadro 1.5 Análisis de varianza del diseño II de Carolina del Norte para ambientes, adaptado de Hallauer y Miranda (1981)	19
Cuadro 1.6 Los 37 Marcadores SSR utilizados en el estudio.	21
Cuadro 1.7 Análisis de Varianza Combinado de Genotipos a través de Ambientes, basado en el rendimiento de grano de 15 Localidades.	24
Figura 1. Clasificación de los diferentes híbridos, basados en medias de rendimiento y estabilidad de acuerdo al análisis de componentes principales.....	25
Figura 2. Clasificación de los mega-ambientes en base a los componentes principales ..	27
Cuadro 1.8 Aptitud Combinatoria General (ACG) de las líneas usadas como machos a través de localidades Para Rendimiento (ton/ha)	29
Cuadro 1.9 Aptitud Combinatoria Específica (ACE) de hembras por machos a través de localidades Para Rendimiento (ton/ha).....	30
Cuadro 1.10 Matriz de distancias genéticas de las 15 líneas de maíz.....	32
Figura 3 Dendograma de Distancias Genéticas de 15 líneas de maíz.....	34
Cuadro 1.11 Distancias genéticas (DG) de las 4 cruzas usadas como hembras y el promedio de los 10 machos con las dos hembras que conforman la craza triple. Además de ACE y de rendimiento promedio de las 40 cruzas triples en forma combinada de las 15 localidades.....	35
Cuadro 1.12 Número de alelos encontrados en las 15 líneas usando marcadores moleculares SRR	39

1. INTRODUCCIÓN

Para todo programa de mejoramiento es primordial contar con una caracterización genotípica apropiada del germoplasma, conocimiento de diversidad genética, con el objetivo de poder agrupar adecuadamente en grupos heteróticos, además de el conocimiento de la interacción genotipo por ambiente para poder recomendar el posicionamiento correcto de los híbridos a los diferentes ambientes de adaptación; esto constituye una de las tareas más importante de cualquier programa de mejoramiento para poder maximizar la explotación de la heterosis, que al final representará el éxito o fracaso del programa de mejoramiento de híbridos. Para poder caracterizar genéticamente el germoplasma recientemente se han estado utilizando con bastante frecuencia los marcadores genéticos, metodología que aporta grandes ventajas en relación con el mejoramiento tradicional, dentro de las más importantes destacan un menor costo y tiempo en la identificación de progenitores e híbridos, definición de grupos heteróticos, entre otros. Los marcadores moleculares representan una poderosa herramienta para definir grupos heteróticos y poder introducir un nuevo material a nuestro patrón heterótico; los marcadores moleculares conocidos como secuencias simples repetidas (SSR) ofrecen una ventaja en precisión, son reproducibles, discriminatorios, permiten estandarizar y son económicos comparados con otros tipos de marcadores (Smith *et al.*, 1997); además, se ha considerado que las distancias genéticas las cuales se pueden estimar con los marcadores genéticos, y la Aptitud Combinatoria Específica (ACE) están relacionadas (Lee *et al.*, 1989, Melchinger *et al.*, 1992; Burstin *et al.*, 1995., Charcosset y Essioux, 1994., Betran *et al.*, 2003).

La explotación de la heterosis en la formación de híbridos tropicales de maíz ha sido ampliamente discutida por muchos investigadores, para que exista expresión de heterosis el tipo de acción génica dominante tiene que estar presente en muchos loci y la diversidad genética es un buen predictor de heterosis siempre y cuando las diferencias en frecuencias génicas sean grandes, los progenitores de un híbrido deben ser significativamente diferentes en su constitución genética y los probadores deben ser capaces de capturar dichas diferencias en las cruces de prueba. (Vasal y Córdova, 1999., Córdova y Trifunovic, 2007)

En el germoplasma de maíz para regiones templadas la correcta definición de patrones heteróticos tiene más de 50 años, mientras que para el del trópico la definición de

patrones heteróticos no es tan clara aun en nuestros días (Reif *et al* 2003); el germoplasma de maíz tropical proveniente del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) no ha sido adecuadamente clasificado dentro de grupos heteróticos apropiados, como se ha hecho con el germoplasma templado, además no existe una información clara del origen para la mayoría de las líneas y poblaciones (Warburton *et al* 2003). Debido a que cada vez se requieren híbridos con mayor rendimiento en el mercado y con una menor interacción ambiental, los programas de mejoramiento se ven en la necesidad de incrementar el número de genotipos y localidades de evaluación; por lo tanto es necesario afinar el uso del análisis de estabilidad, para ayudarnos a desarrollar híbridos en ambientes específicos e híbridos para un mayor rango de ambientes, explotando eficientemente la heterosis.

La obtención de híbridos de maíz tropical de alto potencial de rendimiento y con características adecuadas de altura de planta y mazorca es difícil, como consecuencia a esto la mayoría de los híbridos son muy altos y poseen una altura de mazorca inadecuada, por otro lado la mayoría de los países en América Latina usan híbridos dobles (Vasal *et al.*, 1999), sin embargo para poder incrementar el rendimiento y obtener características mas favorables es necesario desarrollar híbridos triples, los cuales deben reunir tres importantes condiciones que son: a) alto rendimiento y estabilidad; b) adecuado rendimiento en las cruza simples usadas como hembras en la producción de semilla; y c) buena altura de planta y buena producción de polen (Córdova 2003).

En la presente Investigación se seleccionaron cuatro cruza simples de maíz amarillo utilizadas como hembras, la selección se hizo de acuerdo a la respuesta heterótica, rendimiento *per se*, buena estabilidad, resistencia a pudrición de mazorca, baja posición de mazorca, tolerancia a enfermedades foliares, buena cobertura de mazorca y buena raíz. Adicionalmente se seleccionaron diez líneas usadas como machos en la formación de híbridos triples, con buena Aptitud Combinatoria General (ACG).

En este estudio se evaluaron 45 materiales todos ellos proveniente de CIMMYT, de los cuales 40 son híbridos triples, cuatro son cruza simples y un testigo en diseño, de bloques completos al azar con 2 repeticiones por localidad, en un total de 15 ambientes.

Los **objetivos** de este estudio son: a) estimar ACG y ACE como una medida para seleccionar las mejores cruzas simples usadas como hembras y los mejores machos; b) estimar la diversidad genética y clasificar las líneas en base a sus Distancias Genéticas; c) conocer el grado de correlación entre Distancias Genéticas y ACE; d) determinar los patrones de respuesta entre híbridos y ambientes; e) identificar los mejores híbridos triples y líneas para ser usados en programas de mejoramiento. **Hipótesis1:** Existe una respuesta diferencial de genotipos a los diferentes parámetros de evaluación y ambientes de selección. **Hipótesis 2:** Existe una asociación estrecha y positiva entre distancias genéticas estimadas y ACE. **Hipótesis 3:** Los estimadores de ACG y ACE seleccionaron adecuadamente a los progenitores hembra y macho

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 Heterosis, Aptitud Combinatoria General y Aptitud Combinatoria Específica

En la producción de híbridos de maíz es vital la determinación de ciertos estimadores que nos permitan predecir el comportamiento de los materiales a evaluar. Entre estos estimadores se encuentran la heterosis, aptitud combinatoria general y aptitud combinatoria específica. Actualmente el uso de marcadores moleculares permite de manera precisa estimar distancias genéticas y correlacionar estas con los factores antes mencionados lo cual es una posibilidad que se explora en mayor medida.

En muchos casos la expresión de heterosis, ACG y ACE depende de las condiciones ambientales a los que se ve sometido el cultivo. Betran *et al* 2003, estimaron la heterosis y aptitud combinatoria específica (ACE) para el rendimiento de grano de maíz bajo condiciones de estrés y sin estrés, así como las distancias genéticas mediante RFLP y correlacionaron distancias genéticas, heterosis y ACE de 17 líneas tropicales de maíz y sus cruzas dialélicas resultantes; la expresión de heterosis fue mayor bajo condiciones de sequía y menor bajo condiciones de bajo nitrógeno comparado con condiciones sin estrés; las distancias genéticas basadas en marcadores RFLP clasificaron las líneas acordes a su pedigrí, correlaciones positivas fueron encontradas entre distancias genéticas y rendimientos de las cruzas F1, ACE y Heterosis. ACE obtuvo la más alta correlación con distancias genéticas.

Con el objetivo de obtener la aptitud combinatoria, general y específica, Vergara *et al* 2005 cruzaron 20 líneas con seis probadores, las estimaciones de aptitud combinatoria general (ACG) y aptitud combinatoria específica (ACE) fueron obtenidas usando un análisis de Línea x Probador. CML264 (1.586 kg/ha.) y CML319 (1.285 kg/ha.) tuvieron el mayor efecto de ACG en el grupo de líneas tropical y subtropical, respectivamente. El mayor efecto de ACE fueron para las cruzas CML322 x M.L.S4-1 (1.651 kg/ha.) y CML258 x SSE255-18-19 (1.512 kg/ha.).

De la Cruz et al 2005, estimaron los efectos de la aptitud combinatoria general (ACG) de ocho líneas de maíz (*Zea mays* L.) de alta calidad proteínica y la aptitud combinatoria específica (ACE). El material genético consistió de 28 cruzas directas posibles entre las líneas. Las variables: producción de forraje verde (PFV), materia seca total (MST), porcentaje de mazorca (PM) y digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIV) se evaluaron con un diseño experimental de bloques completos al azar con dos repeticiones. Los parámetros genéticos fueron estimados mediante el diseño dialélico IV de Griffing, con el cual se detectaron diferencias estadísticas para ACE en todas las características evaluadas, con excepción de la DIV. Los efectos genéticos aditivos predominaron en la variable DIV, en tanto que los de dominancia fueron de mayor importancia en la expresión de PFV, PM y MST. Los resultados indican que existe amplia variación genética entre líneas evaluadas, que puede usarse en forma inmediata para iniciar programas de mejoramiento genético para forraje.

Moreno et al 2004, evaluaron los efectos de dos ciclos de selección recíproca recurrente realizados en las poblaciones 902 y 903 de maíz (*Zea mays* L.) de Valles Altos de México, provenientes del CIMMYT. Las ganancias en rendimiento de grano por ciclo de selección no fueron significativas como tampoco lo fue la heterosis respecto al progenitor medio. Con el propósito de estimar y cuantificar los efectos genéticos involucrados en cruzas de maíz forrajero y seleccionar híbridos experimentales con mayor rendimiento de forraje verde y materia seca Espinoza et al. 2005 evaluaron 90 híbridos forrajeros en la región lagunera encontrando que los efectos más importantes fueron los no aditivos con una magnitud del 29.72 por ciento para rendimiento de forraje verde y 11.2 para materia seca.

De León et al 2005, al evaluar 10 líneas derivadas de una población de alta calidad proteínica y a sus combinaciones detectaron que genes con acción de dominancia determinan mayormente el comportamiento para las variables rendimiento, altura de planta y de mazorca, mientras que genes con acción aditiva son más importantes en la expresión de mazorcas por planta, días a floración masculina y femenina, así mismo recomiendan emplear esquemas de selección recurrente para mejorar los atributos de las variables cuyo comportamiento está determinado por genes con acción aditiva; y emplear selección recíproca recurrente o programas de hibridación para mejorar el

comportamiento de las variables que son gobernadas mayormente por varianza de dominancia.

Preciado *et al* 2005, evaluaron 16 poblaciones de origen tropical y subtropical y las cruza dialélicas resultantes de estas, entre los resultados más relevantes fue que el patrón heterótico "tropical x subtropical" obtuvo los máximos valores de heterosis específica que podría aprovecharse a través de la Selección Recurrente Recíproca. La población Sint "A" IG de origen tropical, presentó el mayor efecto varietal y por su adaptación al subtrópico se considera la más adecuada para aprovechar la porción aditiva de la varianza genética a través de selección recurrente.

De León *et al* 2005, evaluaron 172 cruza simples provenientes del cruzamiento entre líneas de 5 grupos germoplásmicos contrastantes (Tropical, Enano, Arquetipo, Exótico y QPM). El grupo enano fue el que obtuvo mayor número de combinaciones con comportamiento estadísticamente superior y la mejor combinación germoplásmica con mejor respuesta de rendimiento y adecuada estabilidad para la región del Bajío fue Enano x Tropical, la cual recomiendan puede ser considerada como un patrón heterótico, seguida por Enano x QPM.

De la Rosa *et al* 2006, evaluaron 13 híbridos comerciales de maíz con adaptación al Bajío mexicano y sus 78 cruza posibles provenientes de un dialelo con el propósito de identificar híbridos comerciales con valor genético para iniciar un programa de mejoramiento e identificar pares heteróticos y diversidad la genética entre híbridos; encontraron que los híbridos con los mayores efectos de aptitud combinatoria general para rendimiento fueron PP9539, AN447 y AS910; las cruza entre híbridos que presentaron mayor heterosis fueron: PP9603 x PP9539, PP9539 x AN453 y PP9539 x NA447. Los híbridos genéticamente más relacionados entre sí fueron AN450 y AS910 y el híbrido con mayor diversidad en comparación con los demás fue PP9539. La agrupación de los híbridos por distancias genéticas evidenció que la mayoría de los híbridos resultaron agrupados de acuerdo a la compañía semillera que los produjo.

González 1996 determinó un patrón Heterotico y Aptitud combinatoria con germoplasma de maíz de CIMMYT con un dialelo con 10 líneas, encontrando que la línea con los efectos de aptitud Combinatoria superiores fue S89500F2-2-2-2-B-B (CML 311); esta

línea ha sido usada extensivamente por el sector público y privado en la formación de híbridos directamente y como fuente de germoplasma para mejoramiento genético.

2.2 Marcadores Moleculares

Los marcadores moleculares son una nueva herramienta para agrupar heterotípicamente o delinear grupos heteróticos y para poder introgresar nuevo material a nuestro patrón heterótico. Existen una gran diversidad de marcadores moleculares pero entre ellos destacan las secuencias simples repetidas (SSR), ya que ofrecen ventajas en precisión, son reproducibles, discriminatorios, son factibles de estandarizar y proporcionan una buena relación costo/beneficio comparados con los otros tipos de marcadores (Smith *et al.*, 1997)

El uso de marcadores moleculares puede tener ventajas en un programa de mejoramiento aun cuando los recursos sean limitados, esto por ejemplo cuando se fijan caracteres por medio de retrocruzamientos reduciendo el número de retrocruzamientos de 6 a 3, sin embargo para alcanzar esta meta es necesario un gran número de datos Matthias *et al.* (1999).

Smith *et al.* 1997 y Senior *et al.* 1998, compararon la eficiencia de RFLP y SSR; concluyendo que los SSR son más exactos y reproducibles debido a que muchos de los de estos marcadores tienen valores altos de PIC, además los loci de SSR proporcionan igual o más altos valores de discriminación tomando en consideración los costos de su determinación.

El uso de marcadores moleculares en el mejoramiento genético de plantas se plantea como una nueva herramienta más que como un reemplazo a los sistemas tradicionales. Existen muchas razones por las cuales los mejoradores moleculares nunca podrán reemplazar los métodos tradicionales de mejoramiento, pero que en lugar de tratar de reemplazar lo que se debe de hacer es integrar los esfuerzos para poder maximizar las ganancias de mejoramiento genético (Lande y Thompson 1990).

Charles *et al.* (1999), realizaron un estudio con el objetivo de medir el sinergismo de mejoramiento tradicional y el mejoramiento por medio de marcadores moleculares, para incrementar el potencial de rendimiento; concluyendo que la suma de los dos realmente proporciona grandes avances comparado con la suma de acciones individuales.

Melchinger *et al.*, 1990 comparó 82 marcadores moleculares RFLP con datos de campo de 67 híbridos de maíz, que incluyen 20 líneas progenitoras de los híbridos, concluyendo que la asociación de rendimiento, heterosis, y ACE con loci heterocigotos de RFLP generalmente fueron muy débiles, es decir que no representan una herramienta adicional para predecir rendimiento de híbridos de líneas no emparentadas. Así mismo Melchinger *et al.*, 1992; Burstin *et al.*, 1995,. Charcosset y Essioux, 1994) concluyen que el modelo de distancias genéticas es eficiente para un grupo de híbridos con líneas emparentadas del mismo grupo heterótico.

Con el objetivo de entender la asociación de marcadores y QTLs y como esto puede ayudar a los mejoradores a identificar cruza simples superiores antes de evaluar, Bernardo (1999) desarrolló un estudio para comparar la efectividad mediante un modelo Lineal (T-BLUP), características y marcadores moleculares; concluyendo que T-BLUP es efectivo en la predicción de cruza simples aun con características de baja heredabilidad la comparación con marcadores moleculares que identifican QTL no mejoró la predicción. La ventaja de T-BLUP sobre TM-BLUP aumentó cuando el numero de QTL aumento.

Knapp 1998 desarrolló una estrategia para estimar la probabilidad de seleccionar uno o mas genotipo superiores usando MAS, adicionalmente incluyó parámetros para estimar el costo de la eficiencia de MAS comparado con la selección fenotípica; concluyendo que un mejorador que solo usa la selección fenotípica deberá evaluar de 1 a 16.7 veces mas progenies que un mejorador usando MAS para asegurar al menos uno o mas genotipos superiores. Adicionalmente concluye que para características de baja a moderada heredabilidad y con alta presión de selección el uso de MAS va a disminuir los recursos significativamente.

El mejoramiento genético en el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) en los años 60's y 70's se basó principalmente en el mejoramiento

intrapoblacional mediante selección recurrente y esta se basó principalmente en 100 poblaciones y 30 pools de amplia base genética. La formación de esas poblaciones y pools no obedeció a origen o a grupos heteróticos (Vasal *et al.*, 1999); existe poca información del origen de estas poblaciones y pools; debido a lo mezclado de germoplasma es difícil poder agrupar el germoplasma en grupos heteróticos.

En el germoplasma templado los patrones heteróticos fueron establecidos empíricamente en base a la heterosis que fue observada en las cruzas en el campo (Hallauer *et al.*, 1988), posteriormente por medio de la selección recíproca recurrente se han mejorado los patrones heteróticos existentes. En la actualidad cada vez se está haciendo más impredecible tener conocimiento de la diversidad genética en todo programa de mejoramiento, sabemos que un programa de híbridos vive de la heterosis que está dada por el agrupamiento adecuado del germoplasma, es así como los grupos heteróticos contrastantes son primordiales, existen varios marcadores moleculares que nos detectan polimorfismos entre los más importantes están los SSR.

Al realizar estudio de diversidad con germoplasma en el CIMMYT Reif *et al* 2003., menciona que mientras para germoplasma de maíz templado el patrón heterótico tiene ya más de 50 años, para el trópico actualmente no se cuenta con un patrón heterótico claro.

Warburton *et al* (2003) mencionan que el germoplasma tropical de maíz del CIMMYT no ha sido adecuadamente clasificado dentro de grupos heteróticos apropiados, como se ha hecho con el germoplasma templado, adicionalmente no existe una información clara de origen para la mayoría de las líneas y poblaciones.

Reif *et al* (2003) desarrollaron un estudio con germoplasma tropical del CIMMYT incluyendo 6 poblaciones y un pool, con el principal objetivo de investigar la relación de distancias genéticas y heterosis determinadas por SSR y evaluar el uso de SSR para agrupar germoplasma y establecer patrones heteróticos para el programa tropical de maíz; concluyendo que existe una correlación positiva entre distancias genéticas y heterosis, resultados similares fueron encontrados al comparar distancias genéticas y la ACE por Lee *et al* (1989), Melchinger *et al* (1992); Burstin *et al* (1995), Charcosset y Essioux, (1994); Betran *et al* (2003); además concluye que los marcadores moleculares SSR constituyen una poderosa herramienta para agrupar germoplasma y constituyen

además una herramienta adicional en la complementación de datos de campo para agrupar con satisfactoria respuesta heterótica.

Sandra *et al* (2003) investigaron los cambios en la frecuencia alélica y diversidad genética de progenitores y líneas derivados de las poblaciones BSSS y BSCB1 y la tendencia de distancias genéticas de líneas y progenitores de los diferentes ciclos de selección; se analizaron mediante el uso de 105 RFLP, el material genético fue conformado por 4 grupos, 16 progenitores y 18 líneas elites para el grupo BSSS, 12 progenitores y 7 líneas elites para BSCB1; mayores distancias genéticas fueron encontradas entre grupos de líneas derivadas de ciclos avanzados comparado con grupo de líneas del ciclo 0; Los resultados de esta investigación confirman el gran potencial que significa el uso de la SSR en un programa de mejoramiento.

James *et al* (2002); estimaron mediante 44 marcadores moleculares SSR el nivel de diversidad genética entre y dentro de 6 líneas de maíz de diferentes orígenes; las líneas que se analizaron fueron B73, CM105, Mo17, Oh43, W153R y Wf9 obtenidas de 14 fuentes (diferentes programas de mejoramiento). Del total de la variación observada en frecuencias genéticas 87.8% fue encontrada entre líneas y 7.6% entre fuentes dentro de líneas y 4.6% dentro de orígenes. La media genética de similitud entre orígenes de las mismas líneas fue mayor que 85%, esto se puede explicar debido a que todavía existe variabilidad dentro de la línea y también esta variación puede deberse a las diferentes formas de conservación.

2.3 Interacción Genotipo-Ambiente

La evaluación de varios experimentos en diferentes localidades, proporciona una muy buena fuente de información que ayuda a los investigadores a dirigir mejor las estrategias de mejoramiento para conseguir los objetivos planteados en cada programa de mejoramiento (Casanoves, 2005), en la mayoría de estos estudios el investigador encuentra genotipos rendidores en uno o varios ambientes (Estabilidad), también dando la pauta para dividir o subdividir alguna región de interés (Kang, 2002).

Los programas de mejoramiento siempre están buscando los genotipos que tienen una amplia adaptabilidad a varios ambientes, lo cual es altamente apreciado por el

mejorador (Finlay, 1963), sin embargo algunos otros investigadores tratan de explotar al máximo la interacción genotipo por ambiente y prefieren hacer una recomendación de genotipos para cada ambiente en específico (Annicchiarico, 2005).

La división de una area de estudio en varios ambientes o sub ambientes implica mas trabajo tanto para el fitomejorador como para los productores de semillas, pero esta subdivisión también implica una alta heredabilidad de características deseadas en alguna cruza y por ende un rápido progreso del germoplasma para los fitomejoradores (Gauch and Zobel, 1997)

La estabilidad de genotipos nace de la idea de encontrar el genotipo ideal para muchos ambientes, es decir, que no importando en que condiciones ambientales sea evaluado cierto genotipo ideal, desarrolle su potencia de igual manera, sin embargo se deben remarcar dos conceptos que están ligados en estudios de adaptabilidad que son los conceptos de estabilidad y rendimiento, pues es bien sabido que un genotipo estable no necesariamente es rendidor y viceversa (Eberhart and Russell, 1996; Shukla, 1972).

Un mega-ambiente es definido como una porción (no necesariamente continua) de una región para una especie de cultivo con condiciones ambientales homogéneas que ocasionan que genotipos similares se comporten mejor (Brown *et al*, 1983).

Los mega-ambientes son usados para destinar recursos económicos en un programa de mejoramiento, para racionalizar germoplasma e intercambios de información entre programas de mejoramiento (permitiendo a los programas pequeños de mejoramiento enfocarse al material mas prominente) para incrementar la heredabilidad dentro de un ambiente relativamente bien definido y predecible, además de incrementar la eficiencia de prueba y programas de mejoramiento y dirigir los genotipos a sus apropiadas áreas de producción (Gauss and Zobel, 1997; Brown *et al*, 1983; Peterson and Pfeiffer, 1989).

Los resultados de varios estudios de identificación de mega-ambientes muestran que tener pequeños ambientes ayuda a explotar mejor la interacción genotipo por ambiente y por ende a incrementar los rendimientos, así como tener mejor control de factores bióticos (Gauch and Sobel, 1997).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Germoplasma:

El germoplasma del CIMMYT usado en el presente estudio esta considerado dentro de un acuerdo de investigación CUCBA – CIMMYT y se usa de común acuerdo.

Se usaron quince líneas de maíz de color amarillo de germoplasma tropical del CIMMYT (cuadro 1.1), la selección de estas líneas fue hecha de acuerdo a la respuesta heterótica, rendimiento per se, buena estabilidad, resistencia a pudrición de mazorca, baja posición de mazorca, tolerancia a enfermedades foliares, buena cobertura de mazorca y buena raíz (Córdova 2003).

Cuadro 1.1. Líneas de Germoplasma Tropical Amarillo

Entrada	Línea
1	CML451
2	CL-02450
3	CL-SW002
4	CL-02844
5	CL-02420
6	CL-RCY004=(CL-02432*CL02821)-B-7-B-5-2-1-BBBB-10-10
7	CL-RCY007=PIO3011F2-3-5-6-1-BBB-B
8	IBP-3 C2 TLYD-68-3-2-3-B
9	CL-00392=SinAmTSRC2-86-2-1-B*6-7-10
10	CL-RCYX13 = (CL-03618*CML287)-B-9-1-3-B
11	CL-RCY005=(CL-02709*v)-BBB-1-1-BBBB-10-10
12	(CL-03618*CML287)-B-13-1-1-B
13	(CML285*CL-02410)-B-21-1-2-B
14	CL-RCYX18 = (CML285*CL-00356)-B-1-1-B
15	CL-RCYX19 = (CL-00331*CML287)-B-6-2-3-B

Se realizaron cruzamientos con el fin de formar híbridos usando cuatro cruza simples como hembras y diez líneas como macho (Cuadro 1.2), es decir se cruzaron cada una de las hembras por cada uno de los machos, dando un total de 40 cruza triples (Cuadro 1.3). Las cruza triples y las cruza simples que fueron usadas como hembras,

además de un testigo fueron evaluadas en quince ambientes. La obtención de las cruzas triples se realizó en Tlaltizapan Morelos en el 2002.

Cuadro 1.2 Cuatro cruzas simples usadas como Hembras y 10 líneas usadas como Macho

Línea	Pedigree	Uso
H1	(CML451 x CL-02450)	Hembra
H2	CML451 x CL-SW002)	Hembra
H3	CML451 x CL-02844)	Hembra
H4	CML451 x CL-02420)	Hembra
M6	CL-RCY004=(CL-02432*CL02821)-B-7-B-5-2-1-BBBB-10-10	Macho
M7	CL-RCY007=PIO3011F2-3-5-6-1-BBB-B	Macho
M8	IBP-3 C2 TLYD-68-3-2-3-B	Macho
M9	CL-00392=SinAmTSRC2-86-2-1-B*6-7-10	Macho
M10	CL-RCYX13 = (CL-03618*CML287)-B-9-1-3-B	Macho
M11	CL-RCY005=(CL-02709*v)-BBB-1-1-BBBB-10-10	Macho
M12	(CL-03618*CML287)-B-13-1-1-B	Macho
M13	(CML285*CL-02410)-B-21-1-2-B	Macho
M14	CL-RCYX18 = (CML285*CL-00356)-B-1-1-B	Macho
M15	CL-RCYX19 = (CL-00331*CML287)-B-6-2-3-B	Macho

Cuadro 1.3 Cuarenta y cinco híbridos distribuidos de la siguiente forma 40 cruza triples, 4 cruza simples y un híbrido comercial

ENT	GENEALOGIA
1	(CML451 x CL-02450)
2	(CML451 x CL-02450) / CL-RCY004=(CL-02432*CL02821)-B-7-B-5-2-1-BBBB-10-10)
3	(CML451 x CL-02450) / CL-RCY007=PIO3011F2-3-5-6-1-BBB-B
4	(CML451 x CL-02450) / IBP-3 C2 TLYD-68-3-2-3-B
5	(CML451 x CL-02450) / CL-00392=SinAmTSRC2-86-2-1-B*6-7-10
6	(CML451 x CL-02450) / CL-RCYX13 = (CL-03618*CML287)-B-9-1-3-B
7	(CML451 x CL-02450) / CL-RCY005=(CL-02709*v)-BBB-1-1-BBBB-10-10
8	(CML451 x CL-02450) / (CL-03618*CML287)-B-13-1-1-B
9	(CML451 x CL-02450) / (CML285*CL-02410)-B-21-1-2-B
10	(CML451 x CL-02450) / CL-RCYX18 = (CML285*CL-00356)-B-1-1-B
11	(CML451 x CL-02450) / CL-RCYX19 = (CL-00331*CML287)-B-6-2-3-B
12	CML451 x CL-SW002)
13	(CML451 x CL-SW002) / CL-RCY004=(CL-02432*CL02821)-B-7-B-5-2-1-BBBB-10-10
14	(CML451 x CL-SW002) / CL-RCY007=PIO3011F2-3-5-6-1-BBB-B
15	(CML451 x CL-SW002) / IBP-3 C2 TLYD-68-3-2-3-B
16	(CML451 x CL-SW002) / CL-00392=SinAmTSRC2-86-2-1-B*6-7-10
17	(CML451 x CL-SW002) / CL-RCYX13 = (CL-03618*CML287)-B-9-1-3-B
18	(CML451 x CL-SW002) / CL-RCY005=(CL-02709*v)-BBB-1-1-BBBB-10-10
19	(CML451 x CL-SW002) / (CL-03618*CML287)-B-13-1-1-B
20	(CML451 x CL-SW002) / (CML285*CL-02410)-B-21-1-2-B
21	(CML451 x CL-SW002) / CL-RCYX18 = (CML285*CL-00356)-B-1-1-B
22	(CML451 x CL-SW002) / CL-RCYX19 = (CL-00331*CML287)-B-6-2-3-B
23	CML451 x CL-02844)
24	(CML451 x CL-02844) / CL-RCY004=(CL-02432*CL02821)-B-7-B-5-2-1-BBBB-10-10
25	(CML451 x CL-02844) / CL-RCY007=PIO3011F2-3-5-6-1-BBB-B
26	(CML451 x CL-02844) / IBP-3 C2 TLYD-68-3-2-3-B
27	(CML451 x CL-02844) / CL-00392=SinAmTSRC2-86-2-1-B*6-7-10
28	(CML451 x CL-02844) / CL-RCYX13 = (CL-03618*CML287)-B-9-1-3-B
29	(CML451 x CL-02844) / CL-RCY005=(CL-02709*v)-BBB-1-1-BBBB-10-10
30	(CML451 x CL-02844) / (CL-03618*CML287)-B-13-1-1-B
31	(CML451 x CL-02844) / (CML285*CL-02410)-B-21-1-2-B
32	(CML451 x CL-02844) / CL-RCYX18 = (CML285*CL-00356)-B-1-1-B
33	(CML451 x CL-02844) / CL-RCYX19 = (CL-00331*CML287)-B-6-2-3-B
34	CML451 x CL-02420)
35	(CML451 x CL-02420) / CL-RCY004=(CL-02432*CL02821)-B-7-B-5-2-1-BBBB-10-10
36	(CML451 x CL-02420) / CL-RCY007=PIO3011F2-3-5-6-1-BBB-B
37	(CML451 x CL-02420) / IBP-3 C2 TLYD-68-3-2-3-B
38	(CML451 x CL-02420) / CL-00392=SinAmTSRC2-86-2-1-B*6-7-10
39	(CML451 x CL-02420) / CL-RCYX13 = (CL-03618*CML287)-B-9-1-3-B
40	(CML451 x CL-02420) / CL-RCY005=(CL-02709*v)-BBB-1-1-BBBB-10-10
41	(CML451 x CL-02420) / (CL-03618*CML287)-B-13-1-1-B
42	(CML451 x CL-02420) / (CML285*CL-02410)-B-21-1-2-B
43	(CML451 x CL-02420) / CL-RCYX18 = (CML285*CL-00356)-B-1-1-B
44	(CML451 x CL-02420) / CL-RCYX19 = (CL-00331*CML287)-B-6-2-3-B
45	P-3086

3.2 Localidades y Diseño Experimental usado

La evaluación de las 40 cruzas triples y las cuatro cruzas simples además de un testigo comercial fueron en quince ambientes, siete en México: Concordia, Tabasco; Villa Flores, Chiapas; Acayucan, Veracruz; Ciudad Guzmán, Jalisco; Agua Fría, Puebla; Cotaxtla, Veracruz; y Río Bravo, Tamaulipas. Tres en Paraguay: dos en Capitán Miranda, y una en San Juan Bautista. Una en cada uno de los siguientes sitios; Zacapa, Guatemala; en Turipana, Colombia; Comoyahua, Honduras; El Ejido, Panamá; y India. En el cuadro 1.4 se presentan las características más importantes de cada una de las localidades donde se llevó a cabo esta evaluación.

Cuadro 1.4 Ambientes de evaluación de las cruzas de los diferentes grupos heteróticos y algunas características geográficas.

Ambientes	Latitud Norte	Longitud Oeste
1., Campeche (Menonitas)	9.32944°	-90.70694°
2., Veracruz-1(Concordia)	16.25306°	-93.56444°
3., Veracruz-2 (Acayucan)	18.16056°	-95.02139°
4. C. Guzmán, Jal.	19°48´	-103°28´
5. Puebla (Agua Fría)	19°58´48´´	97°49´36´´
6. Guatemala-1(Zacapa)	14°58´53"N	83°31´36W
7. Guatemala-2	14°38´56"N	90°32´44"O
8. India	18°20´N	75°45´E
9. Honduras (Comayagua)	14°26´59"N	87°39O
10 Panamá (El Ejido)	7°55´09.27N	80°22´47.53O
11. Veracruz (Cotaxtla)	18°50´	96°24´
12. Paraguay-1 (Capitan Miranda)	27°12´S	55°47´58.97"O
13. Paraguay -2 (Capitan Miranda)	27°12´S	55°47´58.97"O
14. Paraguay (San Juan Bautista)	26°40´48.91S	57°09´00.51"O
15.Tamaulipas (Rio Bravo)	25°58´16.38"N	98°05´04.60"O

El diseño experimental utilizado fue en bloques completos al azar con dos repeticiones por localidad, el tamaño de la parcela constó de dos surcos de cinco metros de largo para 11 localidades y dos surcos de cuatro metros de largo para cuatro localidades, con una densidad promedio de 65,000 plantas por hectárea para la mayoría de localidades. Las labores culturales aplicadas a cada una de las localidades fueron las que se hacen de forma común para cada una de las áreas a nivel comercial.

3.3 Variables registradas

- Altura de mazorca. Distancia desde el nivel del suelo hasta el nudo de la mazorca principal
- Número de plantas cosechadas.
- Total de plantas de la parcela útil.
- Acame de raíz expresado como el porcentaje de plantas con una inclinación igual o mayor a 30° .
- Acame de tallo. Porcentaje de plantas que presentó el tallo quebrado abajo de la mazorca, en relación al número total de plantas por parcela.
- Mazorcas podridas. Se obtuvo, sumando las partes podridas de cada mazorca (para completar mazorcas enteras).
- Porcentaje de humedad de grano. Se obtuvo de una muestra de diez mazorcas, en 11 localidades y en cuatro localidades de una muestra total.
- Peso de campo. Peso de grano por parcela útil.
- Rendimiento de grano corregido al 14 por ciento de humedad. En base al peso de campo por parcela y al porcentaje de humedad de la muestra, se calculó el rendimiento.
- El diseño experimental utilizado para la evaluación de las 45 cruzas fue en bloques completos al azar con dos repeticiones en 15 localidades.
- El modelo estadístico utilizado en el análisis de varianza para cada variable registrada para cada localidad fue:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij}$$

Donde:

$$i = 1, 2, \dots, t$$

$$j = 1, 2, \dots, r$$

Y_{ij} = respuesta en el j-ésimo bloque con el genotipo i-ésimo

μ = media general

α_i = efecto de la i - ésimo genotipo

β_j = efecto del j - ésimo bloque

$\alpha\beta_{ij}$ = error en la j- ésima repetición del i-ésimo genotipo

Las hipótesis probadas para los genotipos fueron: $H_0 : t_1 = t_2 = \dots = t_n$, y para H_a : por lo menos uno es diferente. Se realizó una prueba de t para la separación de medias

de genotipos por medio de la diferencia mínima significativa (DMS) tanto en los análisis individuales como en los combinados al 5% de nivel de significancia cuya ecuación se presenta a continuación

$$DMS = t_{0.05,gl} \frac{\sqrt{2CME}}{r}$$

La DMS es la diferencia mínima significativa, t es el valor de tablas con un nivel de significancia de 5%, CME es el cuadrado medio del error y r es el número de repeticiones.

Para el caso de los análisis combinados, el modelo estadístico fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \lambda_k + (\tau\lambda) + \epsilon_{ij}$$

Donde λ son los efectos de las localidades y $(\tau\lambda)$ son los efectos de genotipos por localidad. Los demás términos ya fueron explicados.

3.4 Modelo Estadístico para el Cálculo de la Aptitud Combinatoria (AC)

Para el análisis de la aptitud combinatoria general (ACG) y la aptitud combinatoria específica (ACE), de el rendimiento de grano fue hecho en base en el Diseño II de Carolina del Norte cuyo modelo para cada localidad es el siguiente:

$$G_{ij} = \mu + M_i + H_j + (MH)_{ij} + \epsilon_{ij}$$

El cual considera a:

G_{ij} = respuesta fenotípica de la ij -ésima cruza de la k -ésima repetición

μ = media general

M_i = efecto del macho i -ésimo ($i: 1, 2, \dots, t$)

H_j = efecto de la hembra j -ésima ($J: 1, 2, \dots, r$) o efecto estimado de la ACG de la i -ésima hembra

$(MH)_{ij}$ = efecto de la interacción o efecto estimado de la ACE de la cruza ij .

ϵ_{ij} = es el residual o error experimental

El modelo incluyendo las localidades fue

$$G_{ijk} = \mu + M_i + H_j + L_k + (MH)_{ij} + (HL)_{jk} + (ML)_{jk} + (HM,L)_{ijk} + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

L_k = efecto de la i -ésima localidad o ambiente

$(HL)_{jk}$ = efecto de la interacción hembras por localidad o ambiente (ACG x A)

$(ML)_{jk}$ = efecto de la interacción de machos por localidad o ambiente (ACGxA)

$(HM,L)_{ijk}$ = efecto de la interacción de las cruzas por ambiente (ACExA)

3.5 Análisis de Estabilidad de rendimiento de grano

Para el análisis de estabilidad de el rendimiento de grano se utilizó el modelo AMMI Biplot GGE-SREG, que integra el análisis de varianza y el análisis de componentes principales (Zobel *et al.* 1988; Yan *et al.* 2000). El modelo matemático es:

$$Y_{ge} = \mu + \alpha_g + \beta_e + \sum_{n=1}^N \lambda_n Y_{gn} \delta_{en} + \rho_{ge}$$

En donde:

Y_{ge} = Rendimiento promedio de un genotipo g en un ambiente e

μ = Media general

λ_n = Es el valor singular para el PCA

N = Número de PCA retenidos en el modelo

Y_{gn} = Son los valores de vectores de los genotipos (PCA)

ρ_{ge} = Efecto de las desviaciones de las medias de los genotipos

βe = Efecto de las desviaciones de las medias del ambiente

δen = Son los valores de los vectores para cada ambiente (PCA)

$\rho g e$ = Residual

Cuadro 1.5 Esperanzas de cuadrados medios en el análisis de varianza del diseño II de Carolina del Norte para ambientes, adaptado de Hallauer y Miranda (1981)

Fuente	GL	CM	CME
Ambiente (A)	$\alpha-1$		
Repeticiones/E	$\alpha(r-1) = 5$		
Machos	$(m-1) = 1$	M_7	$\sigma^2 + r\sigma_{fme}^2 + rf\sigma_{me}^2 + re\sigma_{mf}^2 + ref\sigma_m^2$
Hembras	$(f-1)$	M_6	$\sigma^2 + r\sigma_{fme}^2 + rm\sigma_{fe}^2 + re\sigma_{mf}^2 + rem\sigma_f^2$
Machos x Hembras	$(f-1)(m-1)$	M_5	$\sigma^2 + r\sigma_{fme}^2 + re\sigma_{mf}^2$
Machos x A	$(m-1)(\alpha-1)$	M_4	$\sigma^2 + r\sigma_{fme}^2 + rf\sigma_{me}^2$
Hembras x A	$(f-1)(\alpha-1)$	M_3	$\sigma^2 + r\sigma_{fme}^2 + rm\sigma_{fe}^2$
Machos x Hembras/A	$(m-1)(f-1)(\alpha-1)$	M_2	$\sigma^2 + r\sigma_{fme}^2$
Error ponderado	$\alpha(rmf-1)$	M_1	σ^2
Total			

α , r , m y f se refieren al número de ambientes, repeticiones, machos y hembras respectivamente.

3.6 Estimación de Distancias Genéticas

Para la determinación de las distancias genéticas se utilizaron marcadores moleculares los cuales fueron del tipo de secuencias simples repetidas (SSR), también conocidos como microsatélites. Treinta y siete SSR fueron evaluados en todos los genotipos de maíz utilizados en el presente estudio.

El ADN se extrajo del tejido de 15 líneas de Maíz siguiendo la metodología del protocolo de acuerdo al procedimiento de Biotecnología aplicado al laboratorio CTAB (<http://www.cimmyt.cgiar.org/ABC/Protocol/manual/ABC/html>). Para este estudio de la diversidad genética en las 15 líneas de maíz se usaron 37 marcadores SSR con un secuenciador automático de ADN, se requirió el uso de iniciadores marcados con

fluorescencia. Las marcas fluorescentes que se utilizaron fueron TET (verde), HEX (amarillo) y FAM (azul) para marcar los iniciadores que se utilizaron en el secuenciador de ADN ABI PRISM 377™, y HEX (verde), FAM (azul) y NED (amarillo) para marcar los que usan con el Analizador Genético ABI PRISM 3100®. El ABI 3100 es un sistema automático de electroforesis capilar que separa, detecta y analiza varios fragmentos de ADN marcados con fluorescencia en una sola corrida. En el Laboratorio de Genética Molecular Aplicada del CIMMYT usamos el 3100 para hacer *fingerprinting* de las líneas de maíz debido que si comparamos con correr gel de poliacrilamida manualmente, es mucho más eficiente. Las ventajas que ofrece el secuenciador son su gran sensibilidad y su alta resolución (en gel de poliacrilamida,) para separar fragmentos de 50 a 500 pb.

<http://www.cimmyt.org/ambionet/85%20coremarkersfordiversitystudy.PDF>

Las PCR que se usaron para amplificar los SSR utilizados en este estudio de diversidad fueron con las modificaciones de los iniciadores fluorescentes

Los 37 Marcadores SSR usados en este estudio fueron escogidos de la base de datos de maíz <http://www.agron.missouri.edu/ssr.html> verificando que estos estuvieran distribuidos a través del genoma. Las condiciones de los iniciadores y PCR son descritos por Warburton *et al.* (2002);

Cuadro 1.6 Los 37 Marcadores SSR utilizados en el estudio.

Nombre	Cromosoma	Instituto	Unidad repetida	Ann. Temp	Tamaño de Rango / Allele rango
nc130	5.00	CIMMYT	AGC	54	139-140
nc133	2.05	CIMMYT	GTGTC	54	110-165
phi011	1.09	CAAS	AGC	56	204-230
phi032	9.04	CIMMYT	AAAG	56	223-241
phi034	7.02	CAAS	CCT	56	123-145
phi046	3.08	CIMMYT	ACGC	54	62-66
phi050	10.03	CIMMYT	AAGC	56	43-96
phi062	10.04	CAAS	ACG	56	158-164
phi063	10.02	CIMMYT	TATC	60	152-220
phi069	7.05	CIMMYT	GAC	58	193-208
phi076	4.11	CIMMYT	AGCGGG	60	161-173
phi078	6.05	CIMMYT	AAAG	56	245-304
phi079	4.05	CIMMYT	AGATG	60	175-195
phi084	10.04	CIMMYT	GAA	54	156-162
phi089	6.08	CIMMYT	ATGC	54	87-95
phi100175	8.06	CIMMYT	AAGC	54	129-141
phi108411	9.06	CAAS	AGCT	60	116-123
phi112	7.00-7.02	CIMMYT	AG	56	149-163
phi114	7.02	CIMMYT	GCCT	60	135-166
phi123	6.07	CIMMYT	AAAG	54	146-154
phi213984	4.01	CIMMYT	ACC	54	287-320
phi233376	8.03	CIMMYT	CCG	54	136-157
phi299852	6.08	CIMMYT	AGC	58	105-144
phi328175	7.04	CIMMYT	AGG	54	100-136
phi374118	3.03	CAAS	ACC	54	214-232
phi448880	9.05	CIMMYT	AAG	54	173-197
phi96342	10.02	CIMMYT	ATCC	54	230-258
umc1143	6.00-6.01	CIMMYT	AAAAT	54	69-89
umc1152	10.01	CIMMYT	ATAG	54	155-179
umc1153	5.09	CIMMYT	TCA	54	102-117
umc1169	1.04	CIMMYT	TTA	60	116-143
umc1196	10.07	CIMMYT	CACACG	52	137-161
umc1277	9.08	CIMMYT	AATA	54	134-142
umc1279	9.00	CIMMYT	CCT	54	92-101
umc1399	3.07	CIMMYT	CTAG	54	111-129
umc1774	1.1	CAAS	GT	-	-
umc1813	3.09	CAAS	CAG	-	-

Las distancias genéticas fueron calculadas entre pares de líneas utilizando el método desarrollado por Nei y Li (1979)

$$GD = 1 - 2 N_{ij} / N_i + N_j$$

Donde: N_{ij} es el número de bandas comunes para las líneas i y j ; N_i y N_j son el total de número de bandas para la línea i y para la línea j , respectivamente; las distancias genéticas tienen un rango de 0 (todas las bandas comunes) a 1 (ninguna banda en común).

4. RESULTADOS Y DISCUSION

El cuadro 1.7 presenta el análisis de varianza combinado para rendimiento de grano de genotipos a través de las quince localidades. Para todas las fuentes de variación se encontraron diferencias altamente significativas ($p < 0.01$). Las diferencias observadas en localidades es atribuida a las diferencias que existe en los diferentes ambientes de evaluación; esto era de esperarse debido al amplio rango de ambientes y de climas de las localidades, además esta fuente de variación presentó la mayor contribución a la suma de cuadrados, lo que demuestra la gran diversidad que existe entre las localidades; esta interacción es observada como un cambio en el orden de los genotipos dentro de cada ambiente (Russel 2003), así también las repeticiones dentro de ambientes presentaron diferencias significativas lo cual no es positivo para la experimentación ya que indica que el error ambiental pudo haber sido alto y además también afectar al resto de las fuentes de variación.

La fuente de variación factor cruza presentó diferencias altamente significativas lo que indica la diversidad genética entre las cruza, esto ayudara a la selección de los mejores híbridos con características para rendimiento contrastantes.

Los efectos de ACG para hembras y para machos fueron diferencias altamente significativas, lo que demuestra las diferencias entre las hembras y los machos, esto nos da la oportunidad de seleccionar las mejores hembras y los mejores machos, así mismo los efectos de ACE (hembras por machos), lo que indica los contrastes en comportamiento de las diferentes cruza y nos permite seleccionar los mejores. La contribución a la varianza del rendimiento atribuible a las cruza estuvo dada 51.5 para ACG y 48.5 para ACE, esta superioridad de los efectos del tipo aditivo posiblemente sean debido a los métodos de selección recurrente que ha estado expuesto el germoplasma.

Las diferencias significativas encontradas en localidades x ambientes nos indican que la posición de las cruza no fue la misma en cada una de las localidades, esto es explicable por el número de ambientes y el contraste entre estos, sin embargo se pueden seleccionar aquellos que mantienen un comportamiento con mayor uniformidad a través de localidades. ACG de hembras y machos x localidades presentó diferencias altamente

significativas lo que nos sugiere seleccionar los mejores progenitores a través de ambientes para capitalizar los efectos del tipo aditivo; ACE x localidades mostró diferencias altamente significativas lo que indica que el comportamiento de las cruzas no fue igual para todas las localidades, se muestra que los efectos aditivos y no aditivos contribuyeron equilibradamente en loc. x cruza con 44.3 y 55.7 respectivamente.

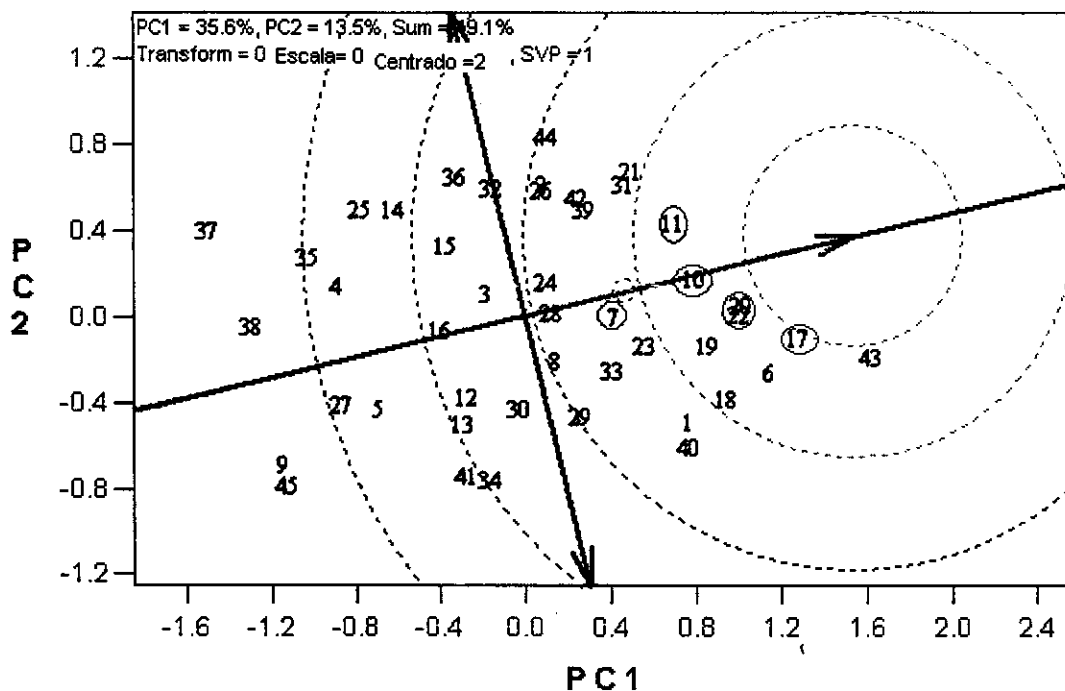
Las diferencias altamente significativas observadas en hembras y genotipos es debida a la variabilidad genética contenida en el germoplasma, la alta significancia mostrada en genotipos x localidad demuestra una vez mas lo contraste entre localidades; asimismo hembras por localidad también presentó diferencias altamente significativas a pesar de que CML451 fue común para todas las hembras.

Cuadro 1.7 Análisis de Varianza Combinado de Genotipos a través de Ambientes, basado en el rendimiento de grano de 15 Localidades.

Fuentes de Variación	gl	Cuadrados medios
Localidades	14	434.5**
Rep(Loc)	15	2.41**
Cruzas	39	7.18**
Hembras GCA	3	20.36**
Machos GCA	9	9.22**
Hembras x Machos SCA	27	5.03**
Loc x Cruzas	546	1.23**
Hembras GCA x Loc	42	2.55**
Probadores GCA x Loc	126	1.51**
Hembras x Machos SCA x Loc	378	0.99**
Error	660	0.59**
Hembras	3	1.43**
Genotipos	43	6.63**
Genotipos x Loc	602	1.21**
Loc x Hembras	42	0.669**

**** Altamente significativo**

Figura 1. Clasificación de los diferentes híbridos, basados en medias de rendimiento y estabilidad de acuerdo al análisis de componentes principales.



Clasificación de los híbridos basados tanto en media como en estabilidad

Este dibujo grafica la media contra el índice de estabilidad, ordenando de mayor a menor (derecha a izquierda) los genotipos de acuerdo a ambos parámetros, basado en el modelo propuesto por Zobel *et al.* 1988; Yan *et al.* 2000, donde el fenotipo es igual al efecto del genotipo más el efecto de la interacción genotipo por ambiente.

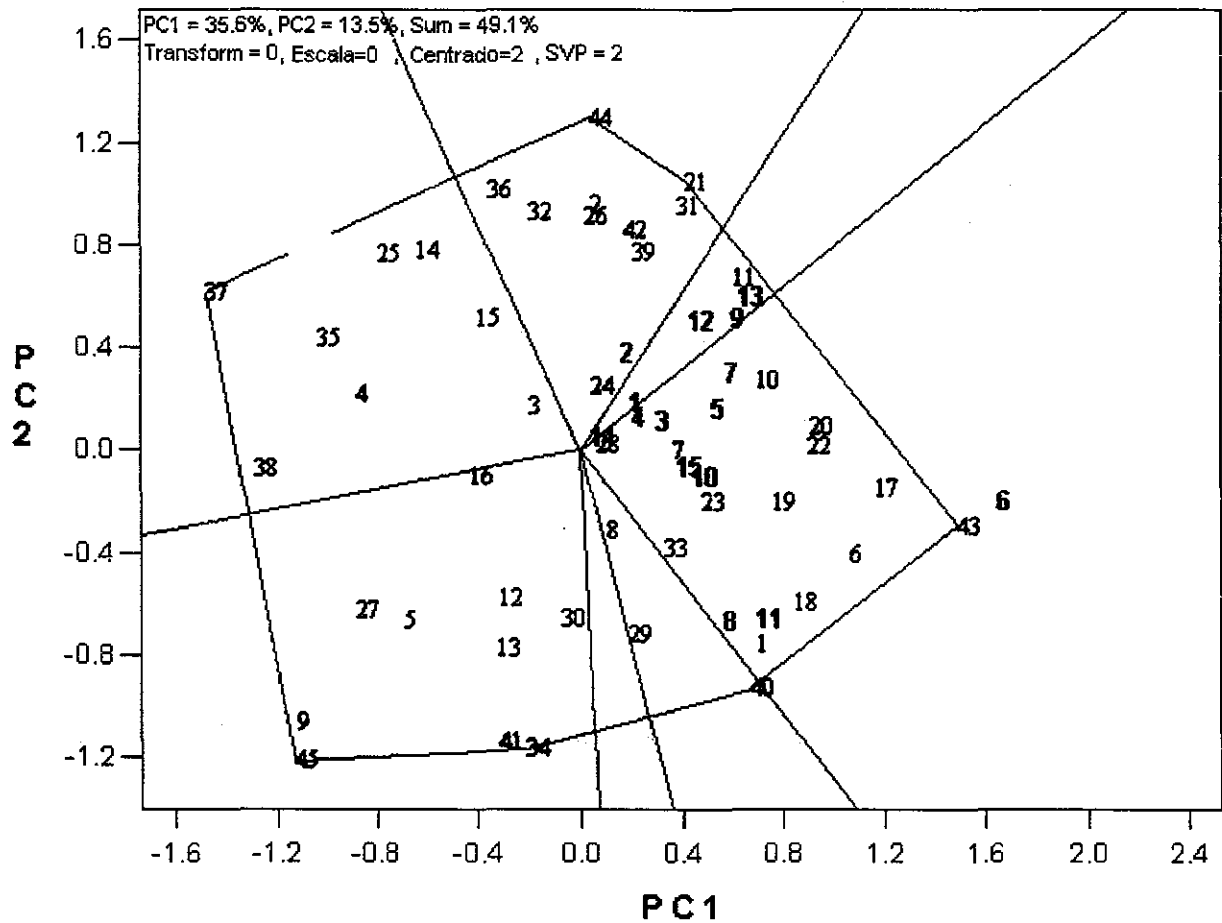
La línea roja indica el índice de estabilidad (Shukla, 1972), entonces si algún genotipo esta ubicado sobre la línea roja, este es totalmente estable (Eberhart and Russell, 1996), aunque como bien sabemos esto no implica que sea el genotipo ideal, pues la estabilidad es una característica independiente del rendimiento, lo que indica la línea roja en la Figura 1 es que el genotipo que se encuentre en esta línea rendirá igual en cualquiera de los ambientes sembrados en esta evaluación, pero su rendimiento puede ser alto o bajo. La línea roja tiene una flecha al lado derecho de la gráfica y esta flecha esta indicando la posición del genotipo ideal, es decir del genotipo con alto rendimiento y estable. La línea azul indica la separación de la media del rendimiento, en otras palabras separa a los genotipos con rendimiento más alto que la media (a la

derecha) y a los que están por debajo de la media (a la izquierda). Los círculos concéntricos son usados para una rápida visualización de los datos.

El genotipo 16 (CML451 x CL-SW002) / CL-00392), por ejemplo muestra ser muy estable, pero con un rendimiento por debajo de la media. En cambio el genotipo 43 (CML451 x CL-02420) / CL-RCYX18) se muestra ser el mejor en rendimiento, pero no es estable. El genotipo 28 (CML451 x CL-02844) / CL-RCYX13) está ubicado sobre la línea roja, esto significa que es muy estable, sin embargo su rendimiento está prácticamente en la media en la línea azul que es la media del rendimiento de todos los genotipos.

De la anterior gráfica podemos deducir que el genotipo 10 (CML451 x CL-02450) / CL-RCYX18) es el mejor y está sobre la línea de estabilidad y esta tiene una media de rendimiento muy buena; el genotipo 7 (CML451 x CL-02450) / CL-RCY005) presenta buen rendimiento y buena estabilidad ya que se encuentra muy cerca de la línea roja. Los genotipos 11 (CML451 x CL-02450) / CL-RCYX19), 20 (CML451 x CL-SW002) / (CML285*CL-02410)-B-21-1-2-B) y 22 (CML451 x CL-SW002) / CL-RCYX19) muestran excelentes rendimientos con estabilidad regular debido a su mediana separación con la línea roja, el genotipo 17 (CML451 x CL-SW002) / CL-RCYX13) presenta el segundo mejor rendimiento sin embargo su estabilidad no es buena ya que la separación de la línea roja es grande.

Figura 2. Clasificación de los mega-ambientes en base a los componentes principales



Cual resulta ganador en donde o cual es el mejor para

El Análisis de Componentes Principales (ACP) es una técnica estadística de síntesis de la Información, o reducción de la dimensión (número de variables). Es decir, ante un banco de datos con muchas variables, el objetivo será reducirlas a un menor número perdiendo la menor cantidad de información posible. Los componentes principales o factores serán una combinación lineal de las variables originales y además serán independientes entre sí. Un aspecto clave en ACP es la interpretación de los factores, ya que ésta no viene dada a priori, sino que es deducida tras observar la relación de los factores con las

variables iniciales (habrá que estudiarse tanto el signo como la magnitud de las correlaciones). Esto no siempre es fácil, cada componente en la grafica expresa en porcentaje la cantidad de varianza explicada del total. El primer componente principal se define como la combinación lineal de las variables originales que tiene varianza máxima. En la mayoría de literatura de análisis multivariado se encuentra que lo que se busca con la representación lineal de los componentes principales es representar la mayor cantidad de variabilidad de algún experimento, esto tiene que ver con el tipo de datos al que se este haciendo referencia, por ejemplo, es diferente representar los datos derivados de una fabrica, donde el proceso esta controlado de factores ambientales, etc. Pero en la agricultura una buena representación de la variabilidad es esperada con el 60% por los dos primeros componentes Jonson y Wichern (1998).

El Biplot que se muestra en la Figura 2, muestra los mega-ambientes y los genotipos ganadores en cada uno de ellos. La importancia de esta gráfica, radica en que podemos distinguir los mega-ambientes que se forman con los datos, estadísticamente hablando, resultado que podemos corroborar con los datos ambientales y que podemos obtener de estaciones meteorológicas cercanas o con las coordenadas de cada lugar (Weikai, 2000).

La interpretación de esta gráfica se describe como las líneas formando una especie de pentágono y las líneas que salen del vértice de la grafica, delinear figuras geométricas que encierran a los ambientes y genotipos que por sus datos estadísticos están mejor relacionados. En la gráfica podemos ver que se forman dos diferentes mega-ambientes y que los ambientes 2 y 6 serán un ambiente independiente de los demás, sin embargo, estos no son importantes, ya que no se correlacionan con ningún otro ambiente.

Los ambientes 1 (Campeche (Menonitas), 9 Honduras (Comayagua) 12 Paraguay-1 (Capitan Miranda) y 13 Paraguay -2 (Capitan Miranda) forman un mega ambiente pequeño, para los cuales el genotipo 11 (CML451 x CL-02450) / CL-RCYX19) resulta el más idóneo. Si observamos en la gráfica de estabilidad de genotipos, podemos darnos cuenta de que el 11 esta bien ubicado, pues es rendidor y no esta muy alejado de la línea de estabilidad, por lo tanto es una buena recomendación para la siembra en esas localidades. El segundo mega ambiente y el más grande esta formado por las localidades: 3 Veracruz-2 (Acayucan), 4 Jalisco (C. Guzmán), 5 Puebla (Agua Fria), 7 Guatemala-2, 8. India, 10 Panamá (El Ejido), 11 Veracruz (Cotaxtla) y 15 Tamaulipas (Rio Bravo). El genotipo mas estable es el 28 (CML451 x CL-02844) / CL-RCYX13), sin

embargo no tiene un buen rendimiento, aunque éste está sobre la media. Como habíamos explorado en la gráfica de estabilidad el genotipo 10 (CML451 x CL-02450) / CL-RCYX18) es el que tiene una buena estabilidad y un buen rendimiento, por lo que no podemos dudar en recomendar la siembra de este genotipo para las localidades formadas por este ambiente.

Cuadro 1.8 Aptitud Combinatoria General para rendimiento (ACG) de las líneas usadas como machos a través de localidades Para Rendimiento (ton/ha)

Macho	X Macho	Media Total	ACG		Posición
6	6.450	6.533	-0.082	NS	6
7	6.430	6.533	-0.103	NS	7
8	6.268	6.533	-0.265	*	9
9	6.207	6.533	-0.326	*	10
10	6.981	6.533	0.449	*	1
11	6.805	6.533	0.273	*	2
12	6.561	6.533	0.029	NS	4
13	6.687	6.533	0.155	NS	3
14	6.407	6.533	-0.126	NS	8
15	6.529	6.533	-0.004	NS	5

NS= No significativo, * significativo al 0.05

En el cuadro 1.8 se presenta la ACG de las líneas usadas como machos a través de localidades para rendimiento en ton/ha. Solo los machos 10 (CL-RCYX13) y 11 (CL-RCY005) presentaron efectos positivos de ACG con diferencias significativas ($p < 0.05$); el macho con los mejores efectos de Aptitud Combinatoria General fue el 10 ($g_i = 0.449$), a través de ambientes con un rendimiento promedio de 6.98 ton/ha., este macho fue el mejor de todo el experimento; en segundo lugar tenemos al macho 11 ($g_i = 0.272$) su genealogía es CL-RCY005= con un rendimiento promedio de 6.8 ton/ha. Dos machos mostraron efectos negativos con diferencias significativas ($p < 0.05$) de ACG, el macho con los peores efectos de ACG fue el 9 (CL-00392) con $g_i = -0.325$ con una media de rendimiento de 6.2 ton/ha, seguido por el machos 8 (IBP-3 C2 TLYD-68-3-2-3-B) con promedio de rendimiento de 6.26 Ton/ha, respectivamente y con efectos de ACG de -0.326 para el macho 9 y -0.265 para el 8.

Cuadro 1.9 Aptitud Combinatoria Específica (ACE) de hembras por machos a través de localidades Para Rendimiento (ton/ha)

Hembras	Machos	Media	Media Total	ACE de Hembras	ACE de Machos	ACE	Posición
1	6	6.696	6.533	0.096	-0.082	0.150 NS	16
1	7	6.492	6.533	0.096	-0.103	-0.033 NS	23
1	8	6.258	6.533	0.096	-0.265	-0.107 NS	32
1	9	6.100	6.533	0.096	-0.325	-0.204 NS	35
1	10	7.272	6.533	0.096	0.449	0.194 NS	1
1	11	6.674	6.533	0.096	0.273	-0.227 *	17
1	12	6.595	6.533	0.096	0.029	-0.063 NS	21
1	13	5.995	6.533	0.096	0.155	-0.789 *	37
1	14	7.236	6.533	0.096	-0.126	0.733 *	2
1	15	6.970	6.533	0.096	-0.004	0.345 *	8
2	6	6.432	6.533	0.242	-0.082	-0.260 *	27
2	7	6.311	6.533	0.242	-0.103	-0.360 *	30
2	8	6.340	6.533	0.242	-0.265	-0.169 NS	29
2	9	6.477	6.533	0.242	-0.325	0.027 NS	24
2	10	7.119	6.533	0.242	0.449	-0.104 NS	4
2	11	6.952	6.533	0.242	0.273	-0.095 NS	9
2	12	6.810	6.533	0.242	0.029	0.007 NS	11
2	13	7.204	6.533	0.242	0.155	0.274 *	3
2	14	7.076	6.533	0.242	-0.126	0.428 *	5
2	15	7.024	6.533	0.242	-0.004	0.253 *	6
3	6	6.631	6.533	0.031	-0.082	0.150 NS	18
3	7	6.310	6.533	0.031	-0.103	-0.150 NS	31
3	8	6.577	6.533	0.031	-0.265	0.278 *	22
3	9	6.145	6.533	0.031	-0.325	-0.093 NS	33
3	10	6.835	6.533	0.031	0.449	-0.177 NS	10
3	11	6.620	6.533	0.031	0.273	-0.216 *	19
3	12	6.456	6.533	0.031	0.029	-0.136 NS	26
3	13	6.805	6.533	0.031	0.155	0.087 NS	12
3	14	6.475	6.533	0.031	-0.126	0.037 NS	25
3	15	6.781	6.533	0.031	-0.004	0.222 *	13
4	6	6.043	6.533	-0.369	-0.082	-0.038 NS	36
4	7	6.604	6.533	-0.369	-0.103	0.543 *	20
4	8	5.8967	6.533	-0.369	-0.265	-0.002 NS	38
4	9	6.108	6.533	-0.369	-0.325	0.269 *	34
4	10	6.700	6.533	-0.369	0.449	0.087 NS	15
4	11	6.980	6.533	-0.369	0.273	0.538 *	7
4	12	6.384	6.533	-0.369	0.029	0.192 NS	28
4	13	6.746	6.533	-0.369	0.155	0.428 *	14
4	14	4.840	6.533	-0.369	-0.126	-1.198 *	40
4	15	5.340	6.533	-0.369	-0.004	-0.820 *	39

NS= No significativo, * significativo al 0.05

En el Cuadro 1.9 se presentan la aptitud combinatoria específica (ACE) para rendimiento de grano en ton/ha de hembras por machos que conforman las 40 cruzas triples (genotipos) en forma combinada de las quince localidades; once cruzas triples presentaron los efectos positivos de ACE con diferencias significativas ($p < 0.05$); la craza con los efectos ACE mas altos es el genotipo 10 formado por la hembra L1 x L2 y

por el macho L14 (CML451 x CL-02450) / CL-RCYX18 con $S_{ij} = 0.733$ y con un rendimiento promedio de 7.235 ton/ha., lo que representa para ambientes tropicales un rendimiento elevado, además este genotipo mostró ser el más estable lo que representa una gran oportunidad de poder ser usado como híbrido comercial, presenta ventajas no solo por su alto rendimiento si también por su producibilidad ya que es una cruce triple, por lo que los costos de producción serían bajos siendo esta una característica junto con el rendimiento las más importantes en cualquier programa de mejoramiento que al final deciden si un híbrido en la etapa precomercial pasa a ser comercial.

Cuadro1.10 Matriz de Distancias Genéticas de las 15 Líneas de Maíz

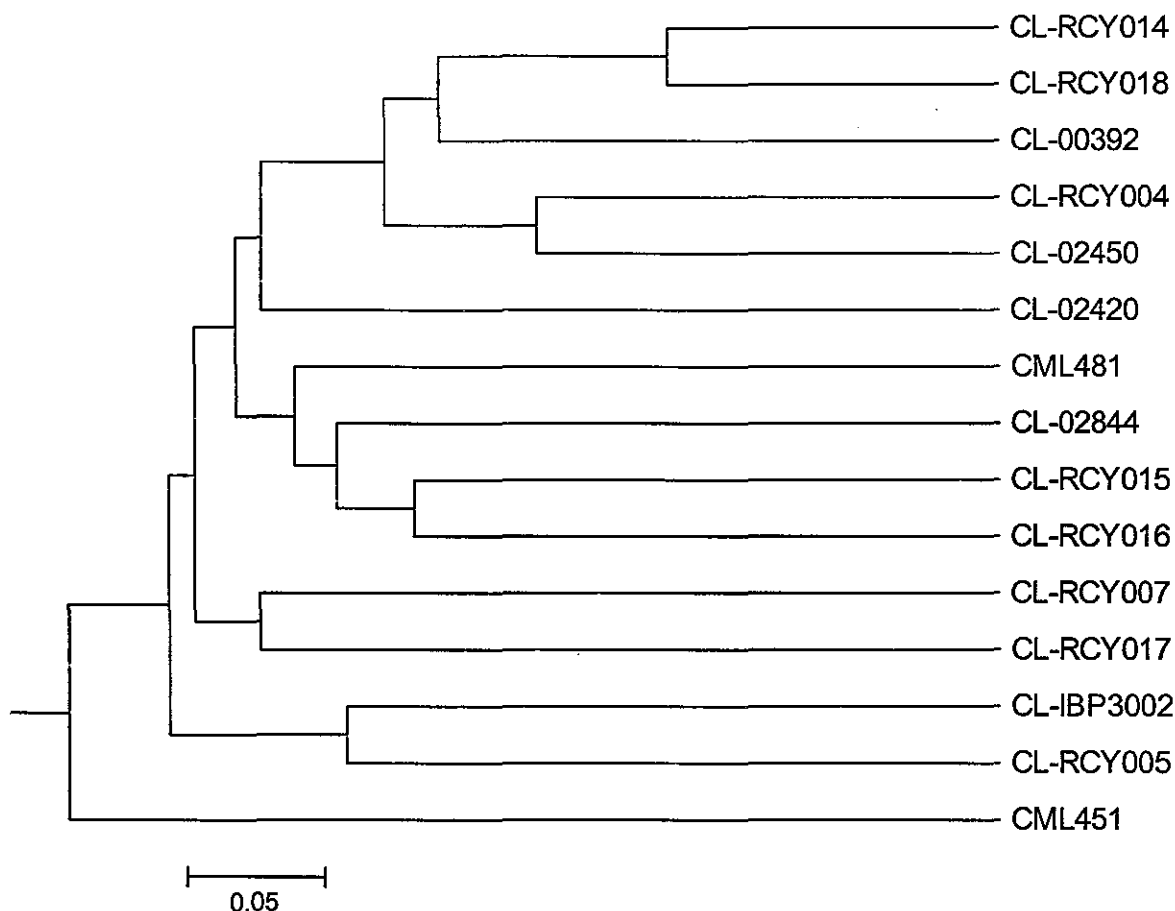
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	Nombre	CML451	CL-02450	CML481	CL-02844	CL-02420	CL-RCY004	CL-RCY007	CL-IBP3002	CL-00392	CL-RCY014	CL-RCY005	CL-RCY018	CL-RCY017	CL-RCY015	CL-RCY016
	Media	0.68	0.48	0.58	0.57	0.59	0.54	0.60	0.62	0.56	0.53	0.58	0.51	0.57	0.55	0.56
1	CML451															
2	CL-02450	0.585														
3	CML481	0.645	0.515													
4	CL-02844	0.722	0.62	0.55												
5	CL-02420	0.629	0.496	0.622	0.632											
6	CL-RCY004	0.654	0.335	0.551	0.561	0.407										
7	CL-RCY007	0.661	0.409	0.634	0.536	0.644	0.657									
8	CL-IBP3002	0.766	0.613	0.588	0.58	0.632	0.653	0.644								
9	CL-00392	0.734	0.502	0.641	0.544	0.621	0.535	0.604	0.56							
10	CL-RCY014	0.739	0.398	0.667	0.554	0.608	0.478	0.593	0.701	0.384						
11	CL-RCY005	0.601	0.474	0.622	0.583	0.71	0.647	0.568	0.475	0.62	0.547					
12	CL-RCY018	0.662	0.329	0.53	0.59	0.551	0.437	0.616	0.612	0.429	0.24	0.474				
13	CL-RCY017	0.643	0.354	0.597	0.607	0.722	0.665	0.538	0.661	0.579	0.535	0.494	0.553			
14	CL-RCY015	0.702	0.54	0.485	0.489	0.578	0.538	0.651	0.567	0.52	0.524	0.597	0.525	0.52		
15	CL-RCY016	0.727	0.491	0.504	0.475	0.468	0.482	0.66	0.684	0.602	0.481	0.655	0.541	0.578	0.424	

En el cuadro 1.10 se presenta la matriz de distancias genéticas de las 15 líneas de maíz; en promedio la línea con las mayores distancias genéticas, es decir que esta menos relacionado genéticamente o que compartió menor número de alelos con el resto de la línea es la CML 451 con 0.68, lo que representa un grupo heterocítico diferente al resto de las líneas; seguida por CL-IBP3002 y por CL-RCY007 con valores de 0.62 y 0.60 respectivamente, que también se pudiera considerar como otro grupo separada del resto de las líneas; mientras tanto la línea que mostraron mayor número de alelos comunes fue CL-02450 con 0.48.

Al medir la distancia genéticas entre pares de líneas, los pares de líneas que están menos relacionadas fueron CML451- CL-IBP3002, CML451- CL-RCY014, CML451- CL-00392 con 0.766, 0.739 y 7.34 de bandas en común respectivamente, mientras los pares de líneas con el mayor número de bandas comunes fueron CL-RCY014- CL-RCY018, CL-02450- CL-RCY018 y CL-02450- CL-RCY004 con 0.240, 0.329 y 0.335 respectivamente. Mostrándose claramente que **CML451** es la menos relacionada y CL-02450 la más relacionada en promedio con el resto de las líneas.

Existe una tendencia positiva de asociación entre DG, ACE y rendimiento en combinaciones específicas, por ejemplo los híbridos CML-451/CML-481/CL-RCY17; CML451/CML-481//CL-RCY15; CML451*CL-02844*CL-RCY16 resultados similares fueron encontrados por Reif *et al* (2003), Lee *et al* (1989), Melchinger *et al* (1992); Burstin *et al* (1995), Charcosset y Essioux, (1994); Betran *et al* (2003). Sin embargo la combinación de tres líneas con diferentes distancias genéticas causó en algunas cruces triples baja asociación entre DG, ACE y rendimiento.

Figura 3 Dendograma de Distancias Genéticas de 15 líneas de maíz.



El dendograma de las 15 líneas se presenta en la gráfica 3 que se integra de 2 grupos de líneas que presentan mayores diferencias genéticas entre estas, la CML 451 se ubicó en el primer grupo como única línea y fue la que mas se separó del resto de las líneas, CML451 formó parte de las 40 cruza triples en el lado hembra con participación de 25% en el híbrido triple; es muy probable si la obtención de las distancias genéticas se hubiesen obtenido antes de formar las cruza hembras, seguramente esta seria macho.

El segundo grupo se ubicaron el resto de las líneas, estas en mayor o menor grado están relacionadas. La determinación del Patrón heterótico es como CML 451 por un lado y las 14 líneas restantes en el otro; para poder enriquecer CML 451 como grupo heterotico es necesario reciclar esta línea con germoplasma que al ser cruzado con el grupo de las 14 líneas nos de valores altos de heterosis.

Cuadro 1.11 Distancias genéticas (DG) de las 4 cruzas usadas como hembras y el promedio de los 10 machos con las dos hembras que conforman la craza triple. Además de ACE y de rendimiento promedio de las 40 cruzas triples en forma combinada de las 15 localidades.

Hembra	DG	Macho	Promedio (DG) con las dos hembras	ACE	Rend. Ton/ha
CML451*CL-02450	0.585	CL-RCY004	0.525	0.149	6.696
CML451*CL-02450	0.585	CL-RCY007	0.552	0.033	6.49233
CML451*CL-02450	0.585	CL-IBP3002	0.655	0.107	6.25767
CML451*CL-02450	0.585	CL-00392	0.607	0.204	6.09967
CML451*CL-02450	0.585	CL-RCY014	0.574	0.194	7.27167
CML451*CL-02450	0.585	CL-RCY005	0.553	0.227	6.67433
CML451*CL-02450	0.585	CL-RCY018	0.525	0.063	6.59500
CML451*CL-02450	0.585	CL-RCY017	0.527	0.789	5.99467
CML451*CL-02450	0.585	CL-RCY015	0.609	0.733	7.23633
CML451*CL-02450	0.585	CL-RCY016	0.601	0.345	6.97033
CML451*CML481	0.645	CL-RCY004	0.617	0.261	6.43167
CML451*CML481	0.645	CL-RCY007	0.647	0.360	6.31133
CML451*CML481	0.645	CL-IBP3002	0.666	0.169	6.34067
CML451*CML481	0.645	CL-00392	0.673	0.028	6.47667
CML451*CML481	0.645	CL-RCY014	0.684	0.104	7.11867
CML451*CML481	0.645	CL-RCY005	0.623	0.095	6.95200
CML451*CML481	0.645	CL-RCY018	0.612	0.007	6.81000
CML451*CML481	0.645	CL-RCY017	0.628	0.274	7.20367
CML451*CML481	0.645	CL-RCY015	0.611	0.428	7.07633
CML451*CML481	0.645	CL-RCY016	0.625	0.253	7.02400
CML451*CL-02844	0.722	CL-RCY004	0.646	0.150	6.63100
CML451*CL-02844	0.722	CL-RCY007	0.640	0.150	6.31000
CML451*CL-02844	0.722	CL-IBP3002	0.689	0.278	6.57700
CML451*CL-02844	0.722	CL-00392	0.667	0.093	6.14500
CML41*CL-02844	0.722	CL-RCY014	0.672	0.177	6.83500
CML451*CL-02844	0.722	CL-RCY005	0.635	0.216	6.61967
CML451*CL-02844	0.722	CL-RCY018	0.658	0.136	6.45600
CML451*CL-02844	0.722	CL-RCY017	0.657	0.087	6.80467
CML451*CL-02844	0.722	CL-RCY015	0.638	0.037	6.47467
CML451*CL-02844	0.722	CL-RCY016	0.641	0.222	6.78133
CML451*CL-02420	0.629	CL-RCY004	0.563	0.039	6.04300
CML451*CL-02420	0.629	CL-RCY007	0.645	0.544	6.60433

Hembra	DG	Macho	Promedio (DG) con las dos hembras	ACE	Rend. Ton/ha
CML451*CL-02420	0.629	CL-IBP3002	0.676	0.002	5.89667
CML451*CL-02420	0.629	CL-00392	0.661	0.269	6.10767
CML451*CL-02420	0.629	CL-RCY014	0.659	0.087	6.69967
CML451*CL-02420	0.629	CL-RCY005	0.647	0.539	6.97533
CML451*CL-02420	0.629	CL-RCY018	0.614	0.192	6.38433
CML451*CL-02420	0.629	CL-RCY017	0.665	0.428	6.74633
CML451*CL-02420	0.629	CL-RCY015	0.636	1.198	4.84000
CML451*CL-02420	0.629	CL-RCY016	0.608	0.820	5.34000
Media	0.645		0.626		6.53262

El Cuadro. 1.11 presenta la distancias genéticas (DG) de las 4 cruzas usadas como hembras y el promedio de los 10 machos con las dos hembras que conforman la craza triple, además de ACE y de rendimiento promedio de las 40 cruzas triples en forma combinada de las 15 localidades.

En varias cruzas existe baja asociación entre DG, ACE y rendimiento; resultados similares fueron encontrados por Dudley et al. 1991 y Martin *et al.* 1995; esta falta de asociación uniforme entre ACE y Distancias genéticas se puede deber al contraste en características de las localidades, el factor adaptabilidad fue mas importante que la diversidad de germoplasma; esto se debe principalmente que al evaluar en varias localidades y con ambientes tan diversos la tolerancia a factores abióticos y bióticos cobra mayor importancia, adicionalmente al no estar bien definidos los grupos heteróticos y mezclados en las cruzas triples es otro factor para no tener una clara correlación entre ACE y DG. Sin embargo existe una tendencia positiva de asociación entre DG, ACE y rendimiento en combinaciones específicas como los híbridos CML451/CML-481//CL-RCY17 , el cual mostró valor alto de DG de la hembra (0.645), y el promedio del macho (0.628), ACE, positiva, y el mas alto rendimiento (7.2 t/ha) este híbrido ha mostrado alta adaptación al trópico y subtrópico de México en localidades múltiples de Jalisco, Guanajuato, sur de Tamaulipas y Veracruz; CML451/CML-481//CL-RCY15 también mostró la misma tendencia con un macho con valor de DG (0.611), ACE positiva y significativa (0.428) y el segundo rendimiento alto (7.0 t/ha) . El valor mas alto de DG para la cruza simple hembra (0.722) fue para CML451*CL-02844, la línea macho CL-RCY16 con DG alta (0.641), forman el híbrido CML451*CL-02844*CL-RCY16 con ACE positiva y rendimiento mayor que la media a través de de 15 localidades, este híbrido ha mostrado comportamiento excelente en Tamaulipas en localidades múltiples y parcelas comerciales superando a los híbridos tradicionales. (Cordova, 2006).

CML451*CL-02450*CL-RCY14, presento un valor alto de DG para el macho (0.574), ACE positiva y el mas alto rendimiento; este híbrido próximamente será liberado por el INIFAP.

Cuadro 1.12 Número de Alelos encontrados en las 15 Líneas usando marcadores moleculares SRR

ent	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	#alelos	faltantes
Name	CML451	CL-02450	CML481	CL-02844	CL-02420	CL-RCY004	CL-RCY007	CL-IBP3002	CL-00392	CL-RCY014	CL-RCY005	CL-RCY018	CL-RCY017	CL-RCY015	CL-RCY016		
phi062	163/163	??	163/163	160/160	157/157	157/157	160/160	160/160	160/160	160/160	160/160	160/160	152/152	160/160	156/156	6	1
phi011	212/212	??	221/221	226/226	212/212	214/214	226/226	213/213	214/214	214/214	213/213	214/214	212/212	213/213	207/207	6	1
phi108411	121/121	??	120/120	120/120	120/120	120/120	123/123	124/124	120/120	120/120	123/123	120/120	123/123	120/120	120/120	4	1
umc1813	115/115	??	115/115	120/120	120/120	120/120	123/123	124/124	120/120	120/120	122/122	120/120	123/123	120/120	120/120	5	1
phi034	138/138	??	122/122	122/122	140/140	140/140	144/144	141/141	144/144	144/144	143/143	144/144	144/144	143/143	137/137	7	1
phi374118	213/213	??	220/220	213/213	213/213	227/227	226/226	223/223	226/226	219/219	210/210	216/216	213/213	213/213	214/214	9	1
umc1774	157/157	??	157/157	157/157	157/157	157/157	157/157	157/157	158/158	158/158	158/158	158/158	158/158	157/157	157/157	2	1
nc130	148/148	142/142	142/142	142/142	145/145	142/142	142/142	145/145	142/142	142/142	145/145	145/145	142/142	142/142	142/142	3	0
nc133	120/120	110/110	115/115	115/115	115/115	115/115	110/110	115/115	115/115	115/115	110/110	115/115	110/110	115/115	115/115	3	0
phi032	237/237	241/241	241/241	241/241	241/241	241/241	239/239	241/241	241/241	241/241	241/241	241/241	241/241	241/241	241/241	3	0
phi046	66/66	62/62	62/62	66/66	62/62	62/62	66/66	62/62	62/62	??	62/62	62/62	??	??	62/62	2	3
phi050	80/80	??	84/84	84/84	80/80	80/80	84/84	84/84	??	??	84/84	84/84	??	80/80	??	2	5
phi063	220/220	??	158/158	172/172	220/220	164/164	172/172	172/172	172/172	216/216	172/172	156/156	224/224	156/156	218/218	7	1
phi069	199/199	202/202	208/208	192/192	196/196	196/196	208/208	196/196	201/201	196/196	196/196	196/196	196/196	196/196	196/196	5	0
phi076	167/167	167/167	167/167	161/161	161/161	173/173	173/173	161/161	167/167	161/161	161/161	161/161	167/167	167/167	??	3	1
phi078	126/126	??	126/126	122/122	122/122	122/122	126/126	124/124	122/122	162/162	126/126	162/162	126/126	122/122	122/122	4	1
phi079	180/180	190/190	190/190	190/190	190/190	190/190	190/190	190/190	190/190	185/185	??	190/190	190/190	190/190	180/180	3	1
phi084	156/156	159/159	159/159	159/159	159/159	159/159	159/159	156/156	159/159	159/159	156/156	159/159	159/159	159/159	159/159	2	0
phi089	87/87	87/87	95/95	95/95	87/87	87/87	87/87	95/95	87/87	87/87	87/87	87/87	95/95	95/95	95/95	2	0
phi112	153/153	151/151	??	159/159	151/151	151/151	151/151	??	153/153	151/151	159/159	153/153	155/155	157/157	151/151	5	2
phi114	137/137	??	169/169	171/171	141/141	141/141	137/137	169/169	??	137/137	169/169	137/137	??	137/137	??	4	4
phi123	150/150	146/146	150/150	150/150	146/146	150/150	146/146	146/146	148/148	??	150/150	150/150	138/138	??	150/150	4	2
phi96342	242/242	242/242	242/242	242/242	242/242	242/242	242/242	242/242	242/242	242/242	242/242	242/242	242/242	242/242	242/242	1	0
phi100175	133/133	133/133	141/141	133/133	141/141	133/133	133/133	137/137	137/137	133/133	133/133	133/133	133/133	133/133	133/133	3	0
phi213984	305/305	305/305	305/305	305/305	305/305	305/305	??	305/305	305/305	305/305	305/305	305/305	305/305	305/305	305/305	1	1
phi233376	154/154	154/154	151/151	151/151	160/160	154/154	151/151	151/151	145/145	1447/147	151/151	154/154	151/151	151/151	151/151	5	0
phi299852	120/120	114/114	114/114	111/111	120/120	114/114	111/111	114/114	111/111	111/111	123/123	114/114	114/114	123/123	120/120	4	0
phi328175	124/124	118/118	124/124	130/130	103/103	127/127	130/130	100/100	124/124	124/124	124/124	124/124	124/124	124/124	124/124	6	0
phi448880	188/188	188/188	188/188	188/188	188/188	188/188	188/188	188/188	188/188	188/188	188/188	188/188	188/188	??	188/188	1	1
umc1143	84/84	79/79	74/74	79/79	84/84	89/89	84/84	74/74	79/79	79/79	79/79	79/79	79/79	74/74	79/79	4	0
umc1152	219/219	223/223	157/157	171/171	219/219	??	171/171	171/171	171/171	215/215	175/175	157/157	223/223	155/155	215/215	7	1
umc1153	105/105	??	108/108	114/114	111/111	??	105/105	105/105	105/105	108/108	105/105	108/108	105/105	??	111/111	4	3
umc1169	133/133	133/133	133/133	127/127	133/133	133/133	133/133	135/135	135/135	??	133/133	133/133	127/127	135/135	127/127	3	1
umc1196	143/143	??	149/149	143/143	??	??	161/161	161/161	155/155	155/155	143/143	155/155	??	149/149	149/149	4	4
umc1277	??	134/134	130/130	142/142	138/138	??	134/134	138/138	138/138	134/134	134/134	134/134	134/134	134/134	??	4	3
umc1279	98/98	98/98	101/101	97/97	101/101	98/98	101/101	98/98	98/98	98/98	98/98	98/98	98/98	95/95	101/101	4	0
umc1399	123/123	113/113	123/123	123/123	113/113	123/123	113/113	123/123	115/115	??	123/123	113/113	??	??	113/113	3	3

Un total de 145 alelos fueron encontrados en las 15 líneas usando 37 marcadores moleculares SRR, con un promedio de 4.0 alelos por locus; mientras que 3 marcadores solo identificaron un solo alelo por lo que se puede considerar su contribución nula, cinco marcadores identificaron solo 2 alelos, el resto de los marcadores identificaron de 3 a 9 alelos diferentes. Siendo el SSR phi374118 el que mostró la mayor cantidad de alelos.

Por otra parte la línea 2 fue la que tuvo más datos perdidos ya que trece marcadores no proporcionaron información para este genotipo lo cual nos hace tomar con reserva la información sobre este genotipo ya que un 30% de los datos genéticos no fue obtenido. La información molecular también muestra que todas las líneas eran completamente homocigotos para los marcadores usados.

5. CONCLUSIONES

Con el presente estudio y bajo las condiciones en que se efectuó se obtuvieron las siguientes conclusiones.

Se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas para genotipos, ambientes, repeticiones y ambientes por genotipos. Los ambientes se pudieron agrupar en dos mega ambientes de acuerdo al análisis de Componentes Principales, aunque uno de estos dos ambientes agrupó la mayor parte de las localidades de evaluación.

Solo los machos 10 (CL-RCYX13) y 11 (CL-RCY005) presentaron efectos positivos de ACG con diferencias significativas ($p < 0.05$); el macho con los mejores efectos de Aptitud Combinatoria General fue el 10 ($gi = 0.449$), a través de ambientes con un rendimiento promedio de 6.98 ton/ha., lo que significa un rendimiento alto para ambientes tropicales.

Existe una tendencia positiva de asociación entre DG, ACE y rendimiento en combinaciones específicas, como en los híbridos CML-451/CML-481/CL-RCY17; CML451/CML-481//CL-RCY15; CML451*CL-02844*CL-RCY16. Sin embargo la combinación de tres líneas con diferentes distancias genéticas causó un mayor número de cruzas con baja asociación entre DG, ACE y rendimiento; esto se debe principalmente a que al evaluar en varias localidades y con ambientes tan diversos la tolerancia a factores abióticos y bióticos cobra mayor importancia, el factor adaptabilidad fue más importante que la diversidad de germoplasma;

Los marcadores moleculares en general fueron informativos con excepción de tres que resultaron monomórficos. El mayor número de alelos encontrado fue 9 pero solo para un marcador.

La estimación de diversidad genética con base a marcadores moleculares SSR nos ayudo a formar un patrón heterótico, el cual quedo conformado el lado A por CML

451 y en el lado B por CL-02450, CML 481, CL-02844, CL-02420, CL-RCY004, CL-RCY007, CL-IBP3002, CL-00392, CL-RCY014, CL-RCY005, CL-RCY018, CL-RCY017, CL-RCY015, CL-RCY016.

El híbrido triple CML451*CL-02450/ CL-RCY015 presentó la mayor estabilidad y excelente rendimiento.

El progenitor con los mejores efectos de Aptitud Combinatoria General a través de ambientes fue CL-RCY014; y el híbrido triple con los efectos mas altos ACE es CML451 x CL-02450) / CL-RCY015; este híbrido además mostró ser el mas estable, lo que representa una gran oportunidad de poder ser usado como híbrido comercial además de presentar ventajas en producibilidad, ya que es una crusa triple, por lo que los costos de producción serian bajos, siendo esta una característica que junto con el rendimiento son de las mas importantes en cualquier programa de mejoramiento.

Se recomienda que el híbrido triple CML451*CL-02450/ CL-RCY015 sea usado a nivel comercial, así como los progenitores de este híbrido y la línea CL-RCY014.

6. BIBLIOGRAFIA

Abdalla, O.S., J. Crossa, E. Autrique, and I.H. DeLacy. 1996. Relationships among international testing sites of spring durum wheat. *Crop Sci.* 36:33–40.

Annicchiarico, P. & E. Piano, 2005. Use of artificial environments to reproduce and exploit genotype \times location interaction for lucerne in northern Italy. *Theor Appl Genet* 110: 219–227

Betrán, F.J, J.-M. Ribaut, D. Beck, y D. Gonzalez 2003. Genetic Diversity, Specific Combining Ability, and Heterosis in Tropical Maize under Stress and Nonstress Environments *Crop Sci* 43:787-806

Burstin, J., D. de Vienne, P. Dubreuil, and C. Damerval. 1994. Molecular markers and protein quantities as descriptors in maize. I. Genetic diversity among 21 maize inbred lines. *Theor. Appl. Genet.* 89:943–950.

Casanoves, F., J. Baldessari, and M. Balzarini. 2005. Evaluation of multienvironment trials of peanut cultivars. *Crop Sci.* 45:18–26.

Charcosset, A., and L. Essioux. 1994. The effect of population structure on the relationship between heterosis and heterozygosity at marker loci. *Theor. Appl. Genet.* 89:336–343

Cordova, H.S 2003 (CIMMYT comunicación personal)

Cordova, H.S. 2006 . CIMMYT Informe Final Evaluacion y desarrollo de hibridos de maiz de grano amarillo en regiones seleccionadas de Mexico.

Cordova, H., and S. Trifunovic. 2007 CIMMYT Maize Hybrids for Latin America. Head to Head Analisis and Probability of Outperforming a Check. *Maydica*.

De La Cruz LE, Rodríguez HS, Estrada BMA, Mendoza PJD (2005) Análisis dialélico de líneas de maíz QPM para características forrajeras. *Universidad y Ciencia* 21 (41): 19-26

De La Rosa A, de León H, Martínez G, Rincón F (2000) Heterosis, habilidad combinatoria y diversidad genética en híbridos comerciales de maíz (*Zea mays* L.). *Agronomía Mesoamericana* 11 (1): 113-122

De León C. H. 2005. Estudio y Clasificación de Grupos Germoplásmicos para la Constitución de Patrones Heteróticos en Maíz. Tesis de Doctorado en Ciencias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 92p.

Dudley, J.W., M.A. Saghai Maroof, and G.K. Rufener. 1991. Molecular markers and grouping of parents in maize breeding programs. *Crop Sci.* 31:718-723.

Eberhart, S. A.; Rusell, W.A. 1966. Stability parameters for comparing varieties. *Crop. Sci.* 6:36-40.

Finlay K, Wilkinson G (1963) The analysis of adaptation in a plant breeding program. *Aust. J. Agric. Res.* 14: 742-754.

Gauch, H.G., and R.W. Zobel. 1997. Identifying mega-environments and targeting genotypes. *Crop Sci.* 37:311-326.

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

Gonzalez L. S. 1996. Integración de un Patron heterotico a partir de un dialelo de diez Lineas de Maize Subtropicales. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 64p.

Hallauer, R., and J.B. Miranda. 1981. Quantitative genetics in maize breeding. Iowa State Univ. Press, Ames.

Hallauer, A.R., and J.B. Miranda Fo. 1988. Quantitative genetics in maize breeding. Iowa State University Press, Ames, IA.

Harlan, J.R. 1976. Genetic resources in wild relatives of crops. *Crop Sci.* 16: 329-333.

J. C. Reif, A. E. Melchinger,* X. C. Xia, M. L. Warburton, D. A. Hoisington, S. K. Vasal, G. Srinivasan, M. Bohn, and M. Frisch 2003 Genetic Distance Based on Simple Sequence Repeats and Heterosis in Tropical Maize Populations. *Crop Sci.* 43:1275–1282

Johnson, A.R.; Wichern, D.W. Applied multivariate statistical analysis. 4. ed. New Jersey: Upper Sadle River, 1999. 816 p.

Knapp, S.J. 1998. Marker-assisted selection as a strategy for increase ing the probability of selecting superior genotypes. *Crop. Sci.* 38: 1164–1174.

Lande, R., and R. Thompson. 1990. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics*124:743–756.

Lee, M., E.B Godshalk, K.R. Lamkey, and W.L. Woodman. 1989. Association of restriction length polymorphism among maize inbreds with agronomic performance of their crosses. *Crop Sci.* 29:1067–1071.

Lillemo M, Van Ginkel M, Trethowan R, Hernandez E, Crossa J, 2005: Differential adaptation of CIMMYT bread wheat to global high temperature environments. *Crop Sci* 45: 2443-2453.

Martin, J.M., L.E. Talbert, S.P. Lanning, and N.K. Blake. 1995. Hybrid performance in wheat as related to parental diversity. *Crop Sci.*35:104–108

Melchinger, A.E., J. Boppenmeier, B.S. Dhillon, W.G. Pollmer, and R.G. Herrmann. 1992. Genetic diversity for RFLPs in European maize inbreds: II. Relation to performance of hybrids within versus between heterotic groups for forage traits. *Theor. Appl. Genet.*84:672–681.

Nei, M., and W. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 76:5256–5273.

Peterson, C. J., and W. H. Pfeiffer. 1989. International winter wheat evaluation: Relationship among test sites based on cultivar performance. *Crop Sci.* 29: 276-282.

Peciado, R.E.; Terron , A.D.; Gomez N.O.; Sierra, M. 2005 Componentes geneticos en poblaciones heteroticamente contrastantes de maiz de origen tropical y subtropical. *Agronomia mesoamericana* 16(2): 145-151. 2005

Sandra Hagdorn, Kendall R. Lamkey,* Matthias Frisch, Paulo E. O. Guimaraes, and Albrecht E. Melchinger 2003 Molecular Genetic Diversity among Progenitors and Derived Elite Lines of BSSS and BSCB1 Maize Populations. *Crop Sci.* 43:474–482

SAS. 1988. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. Tanner, D.G., and M. van Ginkel. 1988.

Senior, M.L., J.P. Murphy, M.M. Goodman, and C.W. Stuber. 1998. Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system. *Crop Sci.* 38:1088–1098.

Shukla, G. K. 1972. Some statistical aspects of partitioning genotype-environmental components of variability. *Heredity* 23:237-245.

Smith, J.S.C., E.C.L. Chin, H. Shu, O.S. Smith, S.J. Wall, M.L. Senior, S.E. Mitchell, S. Kresovich, and J. Ziegler. 1997. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays*L.): Comparisons with data from RFLPs and pedigree. *Theor. Appl. Genet.* 95:163–173

Trethowan, R.M., J. Crossa, M. van Ginkel, and S. Rajaram. 2001. Relationships among bread wheat international yield testing locations in dry areas. *Crop Sci.* 41:1461–1469

Vargas, M., J. Crossa, F.A. van Eeuwijk, M.E. Ramirez, and K.Sayre. 1999. Using partial least-square regression, factorial regression, and AMMI models for interpreting genotype \times environment interaction. *Crop Sci.* 39:955–967.

Vasal, S.K., H. Cordova, S. Pandey, and G. Srinivasan. 1999. Tropical maize and heterosis. In J.G. Coors and S. Pandey (ed.) *The genetics and exploitation of heterosis in crops.* CSSA, Madison, WI.

Vergara, A.; Vasal, S.; Mclean, S.; Srinivasan, G.; RODRÍGUEZ H. 2005 Aptitud Combinatoria General y Especifica de Lineas de (Zea mays) Tropical y Subtropical. *Agronomia Mesoamericana* 16(2): 137-143. 2005

Warburton, M.L., X. Xianchun, J. Crossa, J. Franco, A.E. Melchinger, M. Frisch, M. Bohn, and D. Hoisington. 2002. Genetic characterization of CIMMYTinbred maize lines and open pollinated populations using large scale fingerprinting methods. *Crop Sci.* 42:1832–1840.

Yan, Weikai, Hunt, L.A., Sheng, Qinglai, Szlavnic, Zorka, Cultivar Evaluation and Mega-Environment Investigation Based on the GGE Biplot, *Crop Sci* 2000 40: 597-605

Zobel, R.W., M.J. Wright, and H.G. Gauch. 1988. Statistical analysis of a yield trial. *Agron. J.* 80:388–393.