



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

---

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD**

**GENÉTICA**

**EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE MARCADORES  
MOLECULARES PARA LA FORMACIÓN DE HÍBRIDOS  
EN MAÍZ.**

**ROSENDO HERNÁNDEZ MARTÍNEZ**

**T E S I S**  
**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL**  
**PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**DOCTOR EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO**

2021

La presente tesis titulada: "Evaluación de la eficiencia de marcadores moleculares para la formación de híbridos en maíz", realizada por el alumno: **Rosendo Hernández Martínez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

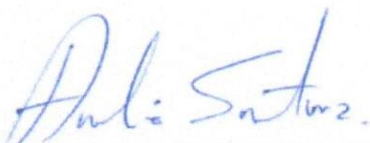
**DOCTOR EN CIENCIAS**

**RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD**

**GENÉTICA**

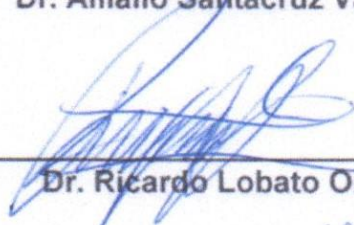
**CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERO



Dr. Amalio Santacruz Varela.

ASESOR (A)



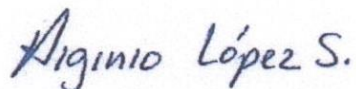
Dr. Ricardo Lobato Ortiz.

ASESOR (A)



Dr. Fernando Castillo González.

ASESOR (A)



Dr. Higinio López Sánchez.

# EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE MARCADORES MOLECULARES PARA LA FORMACIÓN DE HÍBRIDOS EN MAÍZ

Rosendo Hernández Martínez, Dr.  
Colegio de Postgraduados, 2021

## RESUMEN

El aspecto práctico del mejoramiento genético del maíz (*Zea mays* L.) por hibridación está basado en el desarrollo y evaluación de líneas para obtener combinaciones de alto rendimiento; sin embargo, esto implica invertir muchos recursos para evaluar el desempeño de las progenies. El objetivo del presente estudio fue predecir las combinaciones híbridas mediante marcadores moleculares con base en la divergencia entre pares de líneas y evaluar la eficiencia en comparación a los métodos genotécnicos tradicionales. Se realizó un estudio molecular utilizando 22 marcadores SSR para determinar el perfil genético de 37 líneas, con las cuales se estimaron las distancias genéticas (DG) modificadas de Rogers entre pares de líneas, las cuales se utilizaron para estimar el grado de asociación entre éstas y el desempeño de los híbridos; adicionalmente, los híbridos generados con información molecular se compararon contra aquellos generados por evaluación de líneas *per se* y por aptitud combinatoria general mediante prueba de mestizos. Los híbridos se evaluaron en el ciclo otoño-invierno de 2020 bajo un diseño látice 10 × 10 con tres repeticiones. Se evaluaron las variables de rendimiento de grano (REND), porcentaje de desgrane en mazorca (PDG), porcentaje de humedad de grano (PHU), número de hileras (NH), diámetro y longitud de mazorca (DMZ, LMZ), días a floración masculina y femenina (DFM, DFF), altura de planta y de mazorca (ALPL, ALMZ). Se detectó significancia estadística entre genotipos para todas las variables. El análisis de regresión lineal reveló una asociación baja de DG vs. REND y PDG, con coeficientes de regresión de 4.77 t ha<sup>-1</sup> y 7.13 %, y coeficientes de determinación de 0.14 y 0.06, y relación moderada en DG vs ALPL y ALMZ, con significancia y coeficientes de regresión de 84.15 y 42.39 cm y coeficientes de determinación de 0.28 y 0.26. Hubo diferencias significativas entre los genotipos, ambiente e interacción genotipo × ambiente en su mayoría de las variables. Tres testigos comerciales y el híbrido experimental LEARB9 × UAY113 tuvieron rendimiento superior a 9 t ha<sup>-1</sup>. Los contrastes ortogonales mostraron diferencias estadísticas del método molecular vs *per se* y mestizo en las variables de REND, DMZ, ALPL y ALMZ. Se concluyó que los SSRs tienen un poder predictivo útil en la formación de híbridos con perspectivas de ser utilizado como auxiliares en programas de hibridación tradicional.

**Palabras clave:** *Zea mays* L., distancias genéticas, hibridación, métodos genotécnicos, microsatélites, predicción genómica.

# EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF MOLECULAR MARKERS FOR THE DEVELOPMENT OF HYBRIDS IN MAIZE

Rosendo Hernández Martínez, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2021

## ABSTRACT

The practical aspect of maize (*Zea mays* L.) breeding by hybridization is based on the development and evaluation of lines to obtain high yielding combinations; however, this implies investing a lot of resources to predict the performance of the progenies. The objective of this study was to predict hybrid combinations using molecular markers based on the divergence between pairs of lines and to evaluate the efficiency compared to traditional breeding methods. A molecular study was carried out using 22 SSR markers to determine the genetic profile of 37 lines, and to estimate Rogers' modified genetic distances (GD) between pairs of lines which were used to estimate the degree of association between GD and the performance of the hybrids; in addition, the hybrids generated with molecular information were compared to those developed from *per se* inbreds evaluation and from general combining ability through topcrosses test. Hybrids were evaluated during the 2020 Spring-Summer cycle under a  $10 \times 10$  lattice design with three replications. The variables evaluated were grain yield (GRY), percent ear shelling (PGE), percent grain moisture (PHU), number of rows (KRN), ear diameter and length (DE, LE), days to male and female flowering (DMF, DFF), plant and ear height (PLH, EH). Statistica significance was detected between genotypes for all variables. The linear regression analysis revealed a low association of GD vs. GRY and PGE with regression coefficients of  $4.77 \text{ t ha}^{-1}$  and 7.13 %, and determination coefficients of 0.14 and 0.06 as well as a moderate relationship of GD vs PLH and EH with significance and regression coefficients of 84.15 and 42.39 cm and determination coefficients of 0.28 and 0.26. There were significant differences between genotypes, environments and genotype  $\times$  environment interaction in most of the traits. Three commercial hybrids and the experimental hybrid LEARB9  $\times$  UAY113 presented a grain yield higher than  $9 \text{ t ha}^{-1}$ . Orthogonal contrasts showed statistical differences of the molecular vs. *per se* and topcrosses method for the variables of GRY, DE, PLH and EH. It was concluded that SSRs have useful predictive power for hybrid formation with prospects to be used for assistance in traditional hybridization programs.

**Key words:** *Zea mays* L., breeding methods, genetic distances, genomic prediction, hybridization, microsatellites.

## AGRADECIMIENTOS

*Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el financiamiento otorgado durante cuatro años para concluir mis estudios de Doctorado en Ciencias.*

*Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), por el apoyo para realizar mis estudios doctorales y el financiamiento otorgado a través de la jefatura del Campo Experimental Río Bravo (CERIB), Tamaulipas.*

*Al Colegio de Postgraduados (COLPOS), en específico al área de Genética del Programa de Recurso Genéticos y Productividad, por el apoyo brindado a mi formación académica a través de su personal.*

*A mi Consejero, el Dr. Amalio Santacruz Varela, por compartir sus conocimientos, por su tiempo y apoyo para culminar la presente investigación, pero sobre todo por su amistad y consejos oportunos para mi formación académica y personal.*

*A los integrantes de mi Consejo Particular: Dr. Ricardo Lobato Ortiz, Dr. Fernando Castillo González y Dr. Higinio López Sánchez, por el conocimiento, tiempo, esfuerzo y dedicación aportados para la conclusión de mi trabajo de investigación doctoral.*

*A los integrantes como Sinodal: Dr. J. Jesús García Zavala y Dra. Micaela de la O Olán, por el apoyo brindado en la revisión del presente trabajo.*

*Al M.C. Cesar Augusto Reyes Méndez y M.C. Ulises Aranda Lara, por su amistad, consejo y apoyo en las actividades de campo para que este trabajo de investigación se realizara de manera exitosa. Gracias maestros.*

*A la familia López Hernández, por los consejos y amistad brindada durante mi estadía en el Colegio de Postgraduados.*

*A la familia Valdez Hernández, por su amistad y apoyo durante mis estancias en Río Bravo, Tamaulipas.*

*Al personal del INIFAP, Campo Experimental Río Bravo, Tamaulipas, que realizaron una gran aportación con su trabajo en las diferentes fases del desarrollo de la investigación.*

*A los Sres. Juan Herrera Hernández, Gonzalo Samaniego Rodríguez y José Luis Pérez, por su amistad y apoyo en la toma de datos de mi tesis doctoral.*

*Al Personal Académico de Genética, por compartir sus conocimientos para mi formación académica y profesional.*

*A todos mis compañeros de Genética y amigos (Ana Bell Sánchez Aguilar, Jorge Pérez Cárcamo, Hernán Luna Villar y demás) por cada experiencia vivida y su grata compañía durante mi estancia de doctorado.*

*“Nunca pienses en el estudio como una obligación, sino como una oportunidad de penetrar en el bello y maravillo mundo del saber.” Albert Einstein.*

## DEDICATORIA

*A Dios, por bendecirme con la vida, ser el apoyo y fortaleza para continuar en este proceso de aprendizaje para obtener uno de los anhelos más deseados en mi vida.*

*A mis padres Salvador Hernández Martínez y Elena Hernández Martínez, quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más en la parte profesional; gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía.*

*A mi esposa Liliana Guadalupe Alfaro Hernández, por compartir su vida conmigo y el apoyo incondicional para poder concluir esta etapa de formación.*

*A mi pequeña hija “Athenea”, quien pronto estará en nuestras vidas, papá y mamá te esperan con mucha alegría. Te amamos.*

*A mis queridos hermanos: Laura, Amadeo, Ciriaco, Fernando, Catalina y María Elena, por siempre estar presentes de diferentes maneras en mi vida, y que de una u otra manera hicieron posible este logro.*

*A todos mis familiares (sobrinos, tíos, cuñados, primos), quienes siempre tenían una palabra de aliento para trazar y cumplir mis metas.*

## CONTENIDO

RESUMEN.....	iii
ABSTRACT .....	iv
LISTA DE CUADROS .....	x
LISTA DE FIGURAS .....	xii
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
Marco teórico.....	1
Planteamiento del problema .....	6
Objetivos.....	7
Objetivo general.....	7
Objetivos específicos.....	7
Hipótesis .....	7
Literatura citada.....	8
CAPÍTULO I. PREDICCIÓN DEL DESEMPEÑO DE HÍBRIDOS DE MAÍZ CON BASE EN INFORMACIÓN GENÓMICA DE LAS LÍNEAS .....	11
1.1 Resumen .....	11
1.2 Summary.....	12
1.3 Introducción.....	13
1.4 Materiales y métodos.....	15
1.5 Resultados y discusión.....	19
1.6 Conclusiones.....	29
1.7 Literatura citada.....	30



CAPÍTULO II. DESARROLLO DE HÍBRIDOS DE MAÍZ DE CRUZA SIMPLE CON DIFERENTES ESTRATEGIAS DE SELECCIÓN DE PROGENITORES .....	33
2.1 Resumen .....	33
2.2 Summary.....	34
2.3 Introducción.....	35
2.4 Materiales y métodos.....	37
2.5 Resultados y discusión.....	43
2.6 Conclusiones.....	51
2.7 Literatura citada.....	52
DISCUSIÓN GENERAL .....	55
Literatura citada.....	59
CONCLUSIONES GENERALES .....	62

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.1. Loci de microsatélites e iniciadores utilizados para la amplificación de SSRs en líneas de maíz amarillo. ....	17
Cuadro 1.2. Grupos de pares de líneas clasificados por la magnitud de las distancias genéticas modificadas de Rogers. ....	22
Cuadro 1.3. Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza de 46 híbridos de cruza simples de maíz amarillo con información molecular. ....	23
Cuadro 1.4. Medias de diez híbridos (H) de maíz con mayor (H 1-5) y menor (H 6-10) rendimiento y sus componentes con relación a sus distancias genéticas en Díaz Ordaz y Río Bravo, Tamaulipas, México.....	25
Cuadro 2.1. Loci de microsatélites e iniciadores utilizados para el estudio de microsatélites en líneas de maíz. ....	39
Cuadro 2.2. Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza en 96 híbridos de maíz amarillo en parámetros de rendimiento en Díaz Ordaz y Río Bravo, Tamaulipas, México, 2020.....	45
Cuadro 2.3. Medias de 10 híbridos de maíz amarillos generados con información molecular, de evaluación de líneas <i>per se</i> y pruebas de mestizos para parámetros de rendimiento en Díaz Ordaz y Río Bravo, Tamaulipas, México, 2020.....	47
Cuadro 2.4. Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza de tres métodos de elección de progenitores en híbridos de cruza simple de maíz, en Díaz Ordaz y Río Bravo, Tamaulipas, México, 2020.....	50

Cuadro 2.5. Contrastes ortogonales de tres métodos de mejoramiento con información molecular, de evaluación de líneas *per se* y prueba de mestizos para la formación de híbridos simples en maíz, en Díaz Ordaz y Río Bravo, Tamaulipas, México, 2020.....50

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Agrupamiento de 37 líneas de maíz en grupos de similitud de acuerdo con las distancias genéticas modificadas de Rogers. ....	20
Figura 2. Distancia genética vs. A) Rendimiento, B) Número de hileras, C) Diámetro de mazorca, D) Longitud de mazorca, E) Porcentaje de desgrane en mazorca, F) Porcentaje de humedad en grano, G) Altura de planta y H) Altura de mazorca.....	27

## INTRODUCCIÓN GENERAL

### Marco teórico

El maíz (*Zea mays* L.) es el primer cultivo con relación a rendimiento de grano por hectárea y es el segundo, después del trigo, en cuanto a producción total. El cultivo del maíz a nivel mundial tiene un gran impacto socioeconómico, ya que este cereal se consume en diferentes sectores de la sociedad, ya sea como alimento humano, ganado y productos industriales. La diversidad de los ambientes bajo los cuales el maíz es cultivado es mucho mayor que la de cualquier otro cultivo. En el año 2019, a nivel mundial este cultivo ocupó la segunda posición por superficie cosechada con 197 millones de hectáreas y el segundo lugar con una producción total anual de 1,148 millones de toneladas (FAOSTAT, 2020). Con respecto a la situación mundial, México se posicionó en el quinto lugar por la superficie sembrada de maíz grano con 7.1 millones de ha y el séptimo lugar en volumen de producción con 27.2 millones de t (FAOSTAT, 2020). Gran parte del territorio mexicano es propicio para la producción de maíz, pues se siembra en diferentes nichos ecológicos que van desde el nivel del mar hasta los 2,900 m de altitud.

Los principales estados productores de maíz en México en el año 2019 fueron: Chiapas, Jalisco, Veracruz, Sinaloa, Puebla, Oaxaca, Guerrero, México y Michoacán, con superficie de siembra por arriba de los 400 mil ha en cada estado y un promedio nacional del rendimiento de grano de 4.07 t ha<sup>-1</sup> (SIAP, 2020). La producción de maíz se divide principalmente en color de grano blanco y amarillo: el maíz blanco representa el 91 % de la producción y se destina básicamente al consumo humano. En las familias mexicanas se ha determinado un consumo *per capita* de 196.4 kg de maíz blanco, especialmente en forma de tortillas; la producción de maíz blanco satisface la totalidad del consumo nacional. El maíz amarillo, representa una producción del 9 % a nivel nacional, se destina principalmente a la industria o a la fabricación de alimentos balanceados para la producción pecuaria (SAGARPA, 2017). Los principales estados productores

de maíz amarillo son: Chihuahua (146,173 ha), Jalisco (136,668 ha) y Tamaulipas (112,887 ha), con un promedio en rendimiento de 5.7 t ha<sup>-1</sup>. En 2016, el 76 % del maíz amarillo se destinó al consumo pecuario, 18 % a la industria almidonera, 2 % al autoconsumo, 2 % al consumo humano y 2 % fueron mermas; sin embargo, la producción de maíz amarillo en México es deficitaria, pues sólo se satisface el 24 % en los requerimientos de las familias mexicanas (SAGARPA, 2017).

En la región norte de Tamaulipas, la siembra del cultivo de maíz amarillo ha ido disminuyendo en los últimos años, debido a la escasez de agua, principalmente, y por la expansión de los subsectores avícolas y porcinos, así como las diferentes industrias procesadoras para consumo humano. A nivel nacional se sigue siendo deficitario en maíz amarillo, ya que cada año se importan a México 17 millones de toneladas de maíz, de las cuales sólo 548 mil son de grano blanco (SIAP, 2020); por lo tanto, es indispensable el desarrollo rápido de nuevos genotipos que posean características agronómicas superiores a los materiales presentes en el mercado.

El mejoramiento genético es una herramienta que ha permitido al hombre modificar el comportamiento de los cultivos, mediante la generación de materiales con características específicas de calidad, pero sobre todo con alto potencial de rendimiento, satisfaciendo de esta manera las necesidades del productor y la sociedad. Un sistema importante para la obtención de genotipos sobresalientes ha sido por hibridación, considerado como un método de mejoramiento genético que tiene como objetivo principal el aprovechar la generación de F<sub>1</sub> provenientes de la cruce entre dos poblaciones, las cuales pueden ser líneas endogámicas, variedades de polinización libre, sintéticas o poblaciones F<sub>1</sub> en el caso de cruces dobles (Márquez, 1988).

En un programa de mejoramiento por hibridación primero deben desarrollarse las líneas endogámicas mediante autofecundaciones, por varias generaciones, y seleccionar aquellas que obtengan la mejor expresión; la selección puede ser mediante una prueba *per se* o una cruce para

la formación de mestizos, para evitar continuar con la producción de todas las líneas en las etapas posteriores y reducir los costos. La evaluación *per se* consiste en probar la línea como tal, a diferencia de la cruce de mestizos que consiste en cruzar las líneas con un probador y seleccionar la línea a través de la expresión del mestizo. Una evaluación *per se* conserva los efectos aditivos (Falconer, 1970); por lo tanto, para aumentar los alelos favorables dentro de una población, la evaluación *per se* da una respuesta directa, la cual cambia gradualmente a través de generaciones las frecuencias génicas (Hallauer *et al.*, 2010).

Para la generación de híbridos, la cruce debe darse entre progenitores contrastantes que generen la mejor expresión genética (Dzib-Aguilar *et al.*, 2011) y con buena aptitud combinatoria, siendo la base para la formación de los híbridos comerciales (Borel *et al.*, 2013). Al respecto, Hallauer *et al.* (2010) mencionan que para obtener líneas de maíz con alto potencial de rendimiento se debe partir de poblaciones de gran tamaño, de alto rendimiento y usar sistemas de endogamia moderado. La comunidad de fitomejoradores identifica en la genética molecular oportunidades para avanzar en la genética cuantitativa, sin abandonar los conceptos básicos de los métodos genotécnicos tradicionales, a pesar de ser un proceso lento y de alto costo (Hallauer, 2007).

Los marcadores moleculares han mostrado un alto potencial en el desarrollo de programas de mejoramiento genético con la finalidad de seleccionar características de importancia agronómica a partir de datos genotípicos que se encuentren en todo el genoma que permitan predecir con una mayor precisión en elegir un rasgo agronómico específico (Lorenz *et al.*, 2011). Así mismo, los análisis con marcadores moleculares proveen un enfoque alternativo importante para identificar y seleccionar líneas élites parentales para la producción de híbridos (Wu *et al.*, 2016). Recientemente se han utilizado diferentes marcadores moleculares para detectar heterosis y

polimorfismos relacionados con la similitud genética en los padres (Munhoz *et al.*, 2009) que es un factor principal que afecta a la heterosis (Hallauer *et al.*, 2010). La aplicación de los marcadores moleculares permite acelerar el proceso de liberación de genotipos, ya que la selección puede hacerse en diferentes etapas fenológicas de las plantas, lo que permite acortar los tiempos para generar una nueva variedad comercial con respecto al mejoramiento convencional; así mismo, al acortar los plazos de selección y liberación de variedades se logrará un ahorro sustancial de recursos económicos y humanos (Valadez y Kahl, 2000).

En este contexto, los marcadores de tipo microsatélite (SSR) se han convertido en los marcadores moleculares más utilizados en diferentes campos de estudios, debido a su alto polimorfismo y la relativa facilidad de genotipificación (Zane *et al.*, 2002). Los marcadores SSR son regiones de secuencias pequeñas (2 a 6 pares de bases), que se caracterizan por ser codominantes, presentar alto nivel de polimorfismo y reproducibilidad, con protocolos de rápida detección y se encuentran distribuidos uniformemente a lo largo del genoma (Madesis *et al.*, 2013).

Los SSRs pueden utilizarse en estudios de diversidad genética, construcción de mapas de ligamiento y asociación de genes. Dicha información puede utilizarse en programas de mejoramiento genético para estimar mejor el valor genético de los individuos sometidos a la selección; así mismo, permite identificar grupos de líneas en relación con sus distancias genéticas para predecir híbridos a través de su desempeño heterótico. Por ejemplo, Maioli *et al.* (2021) encontraron que los análisis moleculares de microsatélites en comparación a los métodos dialélicos, eran útiles para la formación de híbridos en maíz, y sugirieron que los SSR pueden ser utilizados como una herramienta en relación con los métodos tradicionales de cruza dialélicas para reducir combinaciones híbridas en el campo. Así mismo, Bocianowski *et al.* (2021)



demonstraron una asociación alta entre los marcadores moleculares y los caracteres de rendimiento grano, el peso de 1000 granos, la humedad del grano y el contenido de carotenoides; los autores demostraron la eficiencia de los microsatélites en diferentes contextos genéticos, así como su utilidad en programas de mejoramiento para el desarrollo de híbridos de maíz con diferentes características. Al respecto, Dermail *et al.* (2020) encontraron que la distancia genética basada con microsatélites tienen un poder bajo para predecir el rendimiento híbrido y la heterosis, ya que encontraron una asociación baja entre las variables de estudio y sus distancias genéticas.

En la actualidad, los marcadores moleculares son una herramienta útil dentro de un programa de mejoramiento genético con el fin de determinar la diversidad genética, la delimitación de grupos heteróticos y la asignación de líneas dentro de estos; así mismo en la predicción de híbridos con relación a su divergencia genética entre pares de líneas. Los marcadores más utilizados en plantas por sus características son los microsatélites, los cuales son regiones de secuencias pequeñas (2 a 6 pares de bases) repetidas, arregladas en serie, las cuales se asume que están distribuidas por todo el ADN genómico. En diferentes cultivos se han realizado trabajos que confirman las bondades del uso de los microsatélites para predecir combinaciones híbridas dentro de programas de mejoramiento genético, principalmente en maíz (Beyene *et al* 2019, Marcón *et al.*, 2019; Nyaga *et al.*, 2020), algodón (Geng *et al.*, 2020), mijo perla (Gupta *et al.*, 2018; Patil *et al.*, 2020), mostaza (Habid *et al.*, 2019), arroz (Soni *et al.*, 2019) y trigo (Al-Ashkar *et al.*, 2020). Estos estudios proporcionan una visión amplia para los programas de mejoramiento tradicionales que generan y evalúan un gran número de combinaciones y solo seleccionan unos pocos. Por lo tanto, es importante explorar enfoques alternativos para mejorar la eficiencia de selección y predicción de los mejores híbridos.

## **Planteamiento del problema**

Uno de las zonas más importantes en la producción de maíz en México se encuentra en la región norte de Tamaulipas. En esta región la producción se basa casi en su totalidad en semillas de híbridos mejorados; la liberación de estos híbridos proviene de empresas e instituciones públicas mexicanas; sin embargo, los de estas últimas no compiten con los híbridos comerciales de empresas transnacionales, pues los recursos invertidos por las primeras es mayor, lo que les confiere capacidades de exploración de germoplasma más amplias, lo cual se refleja en una mayor capacidad de estas compañías para liberar nuevos materiales en un periodo corto de tiempo y con rendimientos superiores en relación con los de empresas nacionales. En los últimos años se han liberado híbridos de maíz a partir de sistemas de selección tradicionales, para los cuales el proceso para la generación de un nuevo híbrido es largo y costoso; por tal motivo, es necesario diseñar estrategias para la formación de híbridos con potencial agronómico competente y con potencial de ser liberado a corto, mediano y largo plazo. En este sentido, el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícola y Pecuaria (INIFAP), Campo Experimental Río Bravo (CERIB) está llevando a cabo esfuerzos para la generación de nuevos genotipos que puedan competir con aquellos ya colocados en el mercado nacional; para lograrlo se requiere de un gran esfuerzo interdisciplinario y del empleo de nuevas tecnologías que permitan hacer más eficiente el proceso. Por lo anterior, este trabajo de investigación aborda el estudio de marcadores moleculares de tipo microsatélites (SSR) para predecir híbridos de maíz en la zona norte de Tamaulipas a través de combinaciones en pares de líneas con relación a su divergencia genética y evaluar la eficiencia de los SSR en comparación a los métodos genotécnicos tradicionales, a fin de contribuir a establecer bases sobre el uso de los marcadores moleculares como herramienta en los programas de mejoramiento por hibridación tradicional en el país, en menor tiempo y

esfuerzo. Con base a lo anterior, en el presente trabajo de investigación se plantean los siguientes objetivos e hipótesis.

## **Objetivos**

### **Objetivo general.**

Evaluar la efectividad de las distancias genéticas, estimadas a partir de marcadores moleculares, como predictores de heterosis en híbridos simples de maíz en comparación a dos métodos tradicionales de mejoramiento genético.

### **Objetivos específicos.**

- Realizar un análisis de distancias genéticas en un grupo líneas endogámicas de maíz mediante el uso de marcadores de tipo microsatélites.
- Predecir híbridos de cruza simples sobresalientes de maíz con base en su divergencia genética, con ayuda de marcadores moleculares de secuencias simples repetidas de ADN.
- Evaluar la eficiencia de los marcadores de tipo SSRs para la predicción de híbridos simples en comparación con dos métodos tradicionales.
- Identificar y seleccionar genotipos de buen comportamiento agronómico y estables, para la liberación de futuros híbridos comerciales en el estado de Tamaulipas.

## **Hipótesis**

- El desempeño de los híbridos de cruza simple está asociado con las distancias genéticas de sus progenitores
- Al menos un híbrido simple, predicho con base en su diversidad genética, será superior en rendimiento.

- Los marcadores de SSRs son eficientes para predecir híbridos simples en comparación a los métodos tradicionales de selección de progenitores con base en evaluación *per se* y prueba de mestizos.
- Los híbridos simples de maíz tienen potencial de rendimiento y estabilidad para ser liberados comercialmente y podrán competir con los de las empresas transnacionales.

### Literatura citada

- Al-Ashkar I, M. Alotaibi, Y. Refay, A. Ghazy, A. Zakri and A. Al-Doss (2020)** Selection criteria for high-yielding and early-flowering bread wheat hybrids under heat stress. *PLOS ONE* 15:e0236351, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236351>
- Beyene Y., M. Gowda, M. Olsen, K. R. Robbins, P. Pérez-Rodríguez, G. Alvarado, ... and J. Crossa (2019)** Empirical comparison of tropical maize hybrids selected through Genomic and phenotypic selections. *Frontiers in Plant Science* 10:1502, <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01502>
- Bocianowski J., K. Nowosad, B. Wróbel and P. Szulc (2021)** Identification of associations between SSR markers and quantitative traits of maize (*Zea mays* L.). *Agronomy* 11:182, <https://doi.org/10.3390/agronomy11010182>
- Borel J. C., M. A. P. Romalho, V. R. F. de Carvalho and A. de F. B. Abreu (2013)** Genetic and phenotypic parameters in common bean segregant populations from intra and inter-gene pool crosses of elite lines. *Euphytica* 193:39-47, <https://doi.org/10.1007/s10681-013-0907-1>
- Dermail A., B. Suriharn, S. Chankaew, J. Sanitchon and K. Lertrat (2020)** Hybrid prediction based on SSR-genetic distance, heterosis and combining ability on agronomic traits and yields in sweet and waxy corn. *Scientia Horticulturae* 259:108817, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108817>
- Dzib-Aguilar L. A., J. C. Segura-Correa, R. Ortega-Paczka y L. Latournerie-Moreno (2011)** Cruzas dialélicas entre poblaciones nativas de maíz de Yucatán y poblaciones mejoradas. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 14:119-127.
- FAOSTAT, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: división de Estadística (2020)** Datos sobre alimentación y agricultura. FAO. Roma. <http://www.fao.org/faostat/es/#home> (Diciembre 2020).
- Falconer D. S. (1970)** Introducción a la Genética Cuantitativa. Trad. F. Márquez S. Ed. CECSA. México, D. F. 430 p.

- Geng X., Y. Qu., Y. Jia, S. He, Z. Pan. L. Wang and X. Du (2020)** Assessment of heterosis based on parental genetic distance estimated with SSR and SNP markers in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Research Square* 1:22, <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-65516/v2>
- Gupta S. K., T. Nepolean, C. G. Shaikh, K. Rai, C. T. Hash, R. R. Das and A. Rathore (2018)** Phenotypic and molecular diversity-based prediction of heterosis in pearl millet (*Pennisetum glaucum* L. (R.) Br.). *The Crop Journal* 6:271-281, <https://doi.org/10.1016/j.cj.2017.09.008>
- Habid A. M., M. Sharma, S. Punya, R. K. Salgotra and U. Kiran (2019)** Analysis of allelic differentiation and prediction of suitable parents among *Brassica juncea* L. genotypes using microsatellite markers. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 8:3071-3081, <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.806.366>
- Hallauer A. R. (2007)** History, contribution, and future of quantitative genetics in plant breeding: lessons from maize. *Crop Science* 47:4-19, <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.04.0002IPBS>
- Hallauer A. R., M. J. Carena and J. B. M. Filho (2010)** Quantitative Genetics in Maize Breeding. Springer-Verlag New York, USA. 664 p.
- Lorenz, A.J., S. Chao, F.G. Asoro, E.L. Heffner, T. Hayashi, H. Iwata, ... and J. L. Jannink (2011)** Genomic selection in plant breeding: Knowledge and prospects. *Advances in Agronomy* 110:77-123, <https://doi:10.1016/B978-0-12-385531-2.00002-5>
- Madesis, P., I. Ganopoulos and A. Tsaftaris (2013)** Microsatellites: evolution and contribution. *In: Microsatellites. Methods in molecular biology (Methods and Protocols)*. Vol.1006. S. Kantartzi (ed.). Humana Press. Totowa, New Jersey, USA. pp:1-13, [https://doi.org/10.1007/978-1-62703-389-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-389-3_1)
- Maioli M. F. S. D., R. J. B. Pinto., T. A. da Silva, D. A. Rizzardi, R. A. Matsuzaki, M. A. Sato ... and G. D. L. Garcia (2021)** Partial diallel and genetic divergence analyses in maize inbred lines. *Acta Scientiarum Agronomy* 43:e53540, <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v43i1.53540>
- Marcón F., E. J. Martínez, G. R. Rodríguez, A. L. Zilli, E. A. Brugnoli and C. A. Acuña (2019)** Genetic distance and the relationship with heterosis and reproductive behavior in tetraploid bahiagrass hybrids. *Molecular Breeding* 39:89, <https://doi.org/10.1007/s11032-019-0994-3>
- Márquez S. F. 1988)** Genotécnica Vegetal. Métodos Teoría Resultados. Tomo II, A.G.T. Editor. México, D.F. 665 p.
- Munhoz R. E. F., A. J. Prioli, A. T. Amaral Júnior, C. A. Scapim and G. A. Simon (2009)** Genetic distances between popcorn populations based on molecular markers and correlations with heterosis estimates made by diallel analysis of hybrids. *Genetics and Molecular Research* 8:951-962, <https://doi.org/10.4238/vol8-3gmr592>

- Nyaga C, M. Gowda, Y. Beyene, W. T. Murithi, J. Burgueno, F. Toledo, ... and B. M. Prasanna (2020)** Hybrid breeding for MLN resistance: heterosis, combining ability, and hybrid prediction. *Plants* 9:468, <https://doi.org/10.3390/plants9040468>
- Patil S. K., S. K. Gupta, B. Marathi, S. Danam, R. Thatikunta, A. Rathore ... and O. P. Yadav (2020)** African and asian origin pearl millet populations: genetic diversity pattern and its association with yield heterosis. *Crop Science* 60:3035-3048, <https://doi.org/10.1002/csc2.20245>
- SAGARPA, Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (2017)** Planeación agrícola nacional 2017-2030. Maíz grano blanco y amarillo mexicano. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Ciudad de México. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256429/B\\_sico-Ma\\_z\\_Grano\\_Blanco\\_y\\_Amarillo.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256429/B_sico-Ma_z_Grano_Blanco_y_Amarillo.pdf). (Diciembre 2020).
- SIAP, Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (2020)** Anuario estadístico de la producción agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Ciudad de México. Ciudad de México <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (Diciembre 2020).
- Soni K. S., V.K. Yadav, V.P. Bhadana, M.C. Yadav and R.M. Sundaram (2017)** Prediction of heterosis using hypervariable microsatellite markers in tropical *japonica* × *indica* rice hybrids. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6:1419-1427, <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.610.168>
- Valadez E. y Kahl G. (2000)** Huellas de ADN en Genomas de Plantas: Teoría y Protocolos de Laboratorio. Mundi Prensa. México, D.F. 147 p.
- Wu Y, F. S. Vicente, K. Huang, T. Dhliwayo, D.E. Costich, K. Semagn, ... and R. Babu (2016)** Molecular characterization of CIMMYT maize inbred lines with genotyping-by-sequencing SNPs. *Theoretical and Applied Genetics* 129:753-765, <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2664-8>
- Zane L., L. Bargelloni and T. Patarnello (2002)** Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology* 11:1-16, <https://doi.org/10.1046/j.0962-1083.2001.01418.x>

# **CAPÍTULO I. PREDICCIÓN DEL DESEMPEÑO DE HÍBRIDOS DE MAÍZ CON BASE EN INFORMACIÓN GENÓMICA DE LAS LÍNEAS**

## **1.1 Resumen**

La divergencia genética de los progenitores de un híbrido juega un papel importante en la expresión de la heterosis de su progenie, la cual se puede estimar mediante marcadores moleculares y con base en ella realizar predicciones del comportamiento de los híbridos entre dichas líneas progenitoras, lo que incrementaría la eficiencia de los programas de mejoramiento genético. El objetivo del presente estudio fue predecir las combinaciones híbridas mediante marcadores moleculares de tipo microsátelite de mayor comportamiento heterótico con base en la divergencia entre pares de líneas. Se utilizaron 27 líneas de maíz del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícola y Pecuarías (INIFAP) y 10 de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). Se determinó el perfil genético de las líneas mediante 22 marcadores SSR, con los cuales se estimaron las distancias genéticas (DG) modificadas de Rogers entre pares de líneas y éstas se utilizaron como estimadores de divergencia genética; con esta información se generaron 46 híbridos (20 con alta divergencia genética, 10 con divergencia intermedia y 16 con baja divergencia), mismos que se evaluaron en dos localidades de Tamaulipas, mediante un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. Se midió el rendimiento de grano (REND), porcentaje de humedad del grano (PHU), porcentaje de desgrane en mazorca (PDG), número de hileras (NH), diámetro y longitud de mazorca (DMZ/LMZ), altura de planta y de mazorca (ALPL/ALMZ). Se realizó un análisis de varianza y una regresión lineal con las distancias genéticas entre las líneas progenitoras como variable independiente contra rendimiento y sus componentes como variables dependientes. En el análisis de varianza se detectó significancia ( $P \leq 0.01$  y  $0.05$ ) entre localidades y genotipos para todas las variables de estudio. El híbrido superior en rendimiento de grano fue LEARB9  $\times$  UAY113 con 9.1 t ha<sup>-1</sup>. El

análisis de regresión lineal reveló una asociación baja, aunque con diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.01$  y  $0.05$ ) entre DG vs REND y PDG, con coeficientes de regresión de  $4.77 \text{ t ha}^{-1}$  y  $7.13 \%$ , con coeficientes de determinación  $R^2 = 0.14$  y  $0.06$ . Para DG vs NH, DMZ, LMZ y PHU se observó relación baja y sin significancia estadística; mientras que para DG vs ALPL y ALMZ se observó una relación moderada con significancia ( $P \leq 0.01$ ), coeficientes de regresión de  $84.15$  y  $42.39 \text{ cm}$  y coeficientes de determinación  $R^2 = 0.28$  y  $0.26$ . Los SSRs mostraron un poder moderado en la predicción del desempeño de híbridos de cruza simple de maíz, con perspectiva de ser usados como auxiliares en los esquemas de hibridación tradicionales.

**Palabras clave:** *Zea mays* L., distancias genéticas, híbridos, microsatélites, predicción.

## 1.2 Summary

The genetic divergence of the parents of a hybrid plays an important role in the expression of heterosis of its progeny, which can be estimated by means of molecular markers and based on it to make predictions of the behavior of the hybrids between these progenitor lines, which would increase the efficiency of the genetic improvement programs. The objective of the present study was to predict the hybrid combinations by microsatellite molecular markers of higher heterotic behavior based on the divergence between pairs of lines. A total of 27 maize lines from the Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) and 10 from the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) were used. The genetic profile of the lines was determined using 22 SSR markers, with which the modified Rogers genetic distances (GD) between pairs of lines were estimated and used as estimators of genetic divergence; with this information, 46 hybrids were generated (20 with high genetic divergence, 10 with intermediate divergence and 16 with low divergence), which were evaluated in two localities in



Tamaulipas, by means of a randomized complete block design with three replications. Grain yield (GRY), grain moisture percentage (PHU), ear shattering percentage (PGE), number of rows (KRN), ear diameter and length (DE/LE), plant and ear height (PLH/EH) were measured. Analysis of variance and linear regression were performed with genetic distances between parent lines as independent variable versus yield and its components as dependent variables. In the analysis of variance, significance ( $P \leq 0.01$  and  $0.05$ ) was detected between localities and genotypes for all studied variables. The superior hybrid in grain yield was LEARB9  $\times$  UAY113 with  $9.1 \text{ t ha}^{-1}$ . Linear regression analysis revealed a low association, although with statistical differences significant ( $P \leq 0.01$  and  $0.05$ ) between GD vs GRY and PGE, with regression coefficients of  $4.77 \text{ t ha}^{-1}$  and  $7.13 \%$ , with coefficients of determination  $R^2 = 0.14$  and  $0.06$ . For GD vs KRN, DE, LE and PHU low relationship and no statistical significance were observed; while in GD vs PLH and EH moderate relationship significance ( $P \leq 0.01$ ) and regression coefficients of  $84.15$  and  $42.39 \text{ cm}$  and coefficients of determination  $R^2 = 0.28$  and  $0.26$  were observed. The SSRs showed moderate power in predicting the performance of maize single-cross hybrids, with the prospect of being used as auxiliaries in traditional hybridization schemes.

**Keywords:** *Zea mays* L., genetic distances, hybrids, microsatellites, prediction.

### 1.3 Introducción

En México los programas de mejoramiento genéticos en maíz (*Zea mays* L.) proporcionan a los agricultores variedades e híbridos con características deseables. La hibridación en maíz es un método genotécnico que tiene como objetivo el aprovechamiento de la heterosis en la generación  $F_1$  proveniente entre el cruzamiento de dos o más progenitores (Márquez, 1988). En los programas de hibridación se necesitan progenitores con buen comportamiento *per se*, con alta

frecuencias de alelos favorables y alta divergencia genética, que al cruzarse muestren un alto grado de heterosis.

Para generar e identificar híbridos que reúnan características deseables, los programas de mejoramiento genético necesitan conocer las relaciones genéticas entre los progenitores; por tal razón es necesario contar con información de los efectos de aptitud combinatoria general (ACG) y aptitud combinatoria específica (ACE), para la elección eficiente del programa que dará origen a los mejores híbridos (Lobato *et al.*, 2010; Morata *et al.*, 2006). Lo anterior representa un gran trabajo y esfuerzo que le consume al genetista la mayor parte de su tiempo, además de un alto costo en la evaluación del desempeño de las líneas e híbridos.

En términos prácticos, la heterosis se calcula como la diferencia entre el valor fenotípico de la  $F_1$  y el valor del progenitor medio o el del progenitor superior, y se expresa en porcentaje. La teoría de genética cuantitativa sugiere una relación positiva entre la heterosis de un híbrido y la distancia genética entre sus padres, considerando todos los *loci* subyacentes al rasgo cuantitativo de interés (Falconer y Mackay, 1996); por lo tanto, el conocer la diversidad genética entre líneas de maíz y del grado de parentesco entre ellas es importante en un programa de mejoramiento genético, para que las combinaciones híbridas entre los materiales que fungirán como progenitores sean las más sobresalientes.

Esta diversidad genética puede evaluarse mediante marcadores moleculares (Warburton *et al.*, 2002), los cuales pueden constituirse en una herramienta útil dentro de un programa de mejoramiento genético para determinar la divergencia genética y la delimitación de grupos heteróticos (Valadez y Kahl, 2000). Los microsatélites o SSRs (secuencias simples repetidas) se caracterizan por su alto nivel de polimorfismo, se distribuyen a lo largo del genoma, se heredan de manera mendeliana y son codominantes (Ni *et al.*, 2002). Por lo tanto, son útiles para medir las

distancias genéticas entre las líneas progenitoras para programar con eficiencia los cruzamientos entre éstas y así predecir las de mayor rendimiento (Cho *et al.*, 2004).

Diversas investigaciones en maíz han empleado a los marcadores SSR como herramienta de análisis molecular, al encontrar relación entre distancias genéticas y diversos caracteres de rendimiento, que ha ayudado a los genetistas a predecir las mejores combinaciones en pares de líneas para la formación de híbridos superiores para rendimiento y sus componentes (Balestre *et al.*, 2008; Crossa *et al.*, 2014; Dhliwayo *et al.*, 2009; Ghosh *et al.*, 2018; Mohammadi *et al.*, 2008; Schrag *et al.*, 2010; Tomkowiak *et al.*, 2020); sin embargo, en México los estudios son escasos y poco concluyentes con relación a la divergencia genética de las líneas y el desempeño de los híbridos derivados de éstas, como resultado de la expresión de la heterosis. En teoría, la estimación de dicha divergencia genética podría utilizarse como base para realizar la predicción del comportamiento de los híbridos, lo que incrementaría la eficiencia de los programas de mejoramiento genético. Bajo este contexto, el objetivo del presente estudio fue la predicción asistida por marcadores moleculares de tipo microsatélite de los mejores híbridos de cruce simple, bajo la hipótesis de que una mayor divergencia genética entre líneas progenitoras tendrá como resultado un mejor desempeño de los híbridos predichos.

#### **1.4 Materiales y métodos**

##### **Material genético**

Se utilizaron 27 líneas S<sub>3</sub> y S<sub>5</sub> de maíz amarillo, derivadas del Programa de Mejoramiento Genético del INIFAP-Campo Experimental Río Bravo (CERIB), Tamaulipas y 10 líneas S<sub>4</sub>, del Instituto Mexicano del Maíz (IMM) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). A las líneas del INIFAP se les asignó una clave como líneas experimentales de grano

de color amarillo en Río Bravo (LEARB1 a LEARB27) y los materiales provenientes de la UAAAN se designaron con la clave UAY101, UAY103, UAY104, UAY105, UAY106, UAY108, UAY110, UAY111, UAY113 y UAY114.

### **Fase de laboratorio**

#### **Extracción de ADN genómico**

Se realizó a partir de 100 mg de tejido del mesocótilo y coleóptilo de tres plántulas individuales de ocho días de edad por línea, mediante un kit comercial para extracción de ADN (ChargeSwitch g DNA Plant Kit, Invitrogen®), con un robot de extracción KingFisher Flex (Thermo Scientific, Waltham, Maryland, USA), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La concentración y calidad del ADN extraído fue determinada mediante lecturas de absorbancia a 260/280 nm en un espectrofotómetro de ultra bajo volumen (NanoDrop™ 2000c, Thermo Scientific®, Wilmington, USA).

#### **Genotipo de las líneas con microsatélites**

Se analizaron tres individuos de cada una de las líneas mediante 22 *loci* de secuencias simples repetidas de ADN (Cuadro 1.1). Los microsatélites utilizados se encuentran en la base de datos Maize Genetics and Genomics Database (<http://www.maizegdb.org/ssr.php>).

#### **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

Se llevó a cabo en un termociclador (Gene AMP PCR® System 9700, Singapur). La amplificación consistió en una desnaturalización inicial de 4 min a 95 °C, seguida de 24 ciclos de 1 min a 95 °C (desnaturalización), 2 min a 55 °C (alineación) y 2 min a 95 °C (extensión), y una extensión final de 1 h a 72 °C. Cada reacción individual consistió de 2 µL de 10X Buffer PCR (500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl, pH 9.0 at 25 °C), 0.4 µL de 10mM dNTPs (2.5 mM cada uno dNTP), 1.2 µL de 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 µL de Taq DNA polimerasa (1 unidad total), 2.5 µL de

ADN molde (10 ng  $\mu\text{L}^{-1}$ ), 2.0  $\mu\text{L}$  de 4 pM de cada par de iniciadores (1  $\mu\text{L}$  de cada uno, adelante y reversa) y 11.7  $\mu\text{L}$  de agua destilada dos veces.

**Cuadro 1.1. Loci de microsatélites e iniciadores utilizados para la amplificación de SSRs en líneas de maíz amarillo.**

Locus	BIN	Tamaño de fragmento (pb)	Iniciador hacia adelante/Iniciador en reversa
phi127	2.07	105–126	NED-ATATGCATTGCCTGGAAGGA//AATTCAAAACAGCCTCCCGAGTGT
phi051	7.06	136–154	6-FAM-GCGAAAGCGAACGACAACAATCTT//ACATCGTCAGATTATATTGCAGACCA
phi115	8.03	292–312	HEX-GCTCCGTGTTTCGCCTGAA//ACCATCACCTGAATCCATCACA
phi033	9.02	224–270	6-FAM-ATCGAAATGCAGGCGATGGTTCTC//ATCGAGATGTTCTACGCCCTGAAGT
phi072	4.01	134–163	6-FAM-GTGCATGATTAATTTCTCCAGCCTT//GACAGCGCGCAAATGGATTGAACT
phi093	4.08	272–296	NED-GTGCGTCAGCTTCATCGCCTACAAG//CCATGCATGCTTGCAACAATGGATACA
phi024	5.00	354–376	HEX-CTCCGCTTCCACTGTTCCA//TGTCCGCTGCTTCTACCCA
phi085	5.06	233–266	6-FAM-AGCAGAACGCAAGGGCTACT//TTTGGCACACCACGACGA
phi121	8.04	93–105	6-FAM-AGGAAAATGGAGCCGGTGAACCA//TTGGTCTGGACCAAGCACATACAC
phi056	1.01	231–278	NED-ACTTGCTTGCCCTGCCGTTAC//CGCACACCACTTCCCAGAA
phi064	1.11	75–121	HEX-CGAATTGAAATAGCTGCGAGAACCT//ACAATGAACGGTGGTTATCAACACGC
phi96100	2.00 - 2.01	218–300	6-FAM-AGGAGGACCCCAACTCCTG//TTGCACGAGCCATCGTAT
phi101249	?	114–161	NED-TTCTCCTCCACTGCCTC//AAGAACAGCGAAGCAGAGAAGG
phi029	3.04	139–176	NED-TCTTTCTCCTCCACAAGCAGCGAA//TTTCCAGTTGCCACCGACGAAGAAGCTT
phi073	3.05	186–203	HEX-GTGCGAGAGGCTTGACCAA//AAGGGTTGAGGGCGAGGAA
phi96342	10.XX	223–256	6-FAM-GTAATCCACGTCCTATCAGCC//TCCAACCTGAACGAACCTCCTC
phi427913	1.XX	117–207	NED-CAAAAGCTAGTCGGGTCA//ATTGTTTCGATGACACACTACGC
phi402893	2.00	205–243	HEX-GCCAAGCTCAGGGTCAAG//CACGAGCGTTATTCGCTGT
phi308090	4.01 - 4.04	190–226	6-FAM-CAGTCTGCCACGAAGCAA//CTGTGCGTTTCGGTCTTCTT
phi330507	5.02 - 5.06	128–161	NED-GTAAAGTACGATGCGCTCCC//CGGGGTAGAGGAGAGTTGTG
phi213398	4.01 - 4.04	287–320	6-FAM-GTGACCTAAACTTGGCAGACCC//CAAGAGGTACCTGCATGGC
phi159819	6.00 - 6.08	119–139	6-FAM-GATGGGCCCTAGACCAGCTT//GCCTCTCCCATCTCTCGGT

### Electroforesis y análisis de fragmentos

Los productos de PCR se evaluaron por electroforesis vertical (MG33-1063, C.B.S. Scientific® Del Mar California, EUA). Se emplearon geles de acrilamida al 8 % (CIMMYT, 2006), la separación de fragmentos de menor peso molecular (75-278 pb) se llevó a cabo durante 180 min a 250 volts, mientras que para fragmentos con mayor peso molecular (105-376 pb) la separación de fragmentos se efectuó durante 240 min a 250 volts. El revelado se hizo con AgNO<sub>3</sub> (Sigma®, EUA) de acuerdo con la metodología de CIMMYT (2006). Los geles se fotodocumentaron con un transluminador MiniBis Pro 16 mm (Bio Imaging Systems®, Jerusalén, Israel).

### **Análisis de la información molecular**

A partir de la lectura directa de los geles se generó un perfil alélico para cada una de las líneas y con esta información se generó una matriz de distancias genéticas de Rogers modificadas por Wright (1978) mediante el programa computacional NTSYS (Rohlf, 2009) y se realizó un análisis de conglomerados con base en las distancias genéticas mediante el método de agrupamiento UPGMA.

## **Fase de campo**

### **Material genético**

Con la información de divergencia genética de las líneas se generaron 46 híbridos (20 con alta divergencia genética, 10 con divergencia intermedia y 16 con baja divergencia) a través de cruzas dirigidas. La generación de los híbridos se realizó en el ciclo primavera-verano de 2018 en el INIFAP, Campo Experimental Río Bravo, Tamaulipas.

### **Diseño y unidad experimental**

La evaluación de los híbridos se realizó en el ciclo otoño-invierno de 2019 - 2020 en dos ambientes; el primero en la localidad de Río Bravo y el segundo en Díaz Ordaz, Tamaulipas. Los ensayos se establecieron en un diseño experimental de bloques completos al azar con tres

repeticiones en cada ambiente. El tamaño de la parcela fue de 2 surcos de 5 m de largo con una separación entre surco de 0.82 m, con una densidad de población de 65,000 plantas ha<sup>-1</sup>. Al momento de la cosecha se muestrearon 40 plantas con competencia completa por parcela para estimar el rendimiento y sus componentes.

### **Variables evaluadas**

Se cuantificaron las variables de rendimiento de grano (REND) ajustado al 14 % de humedad en t ha<sup>-1</sup>, porcentaje de desgrane en mazorca (PDG), porcentaje de humedad del grano (PHU), número de hileras (NH), diámetro y longitud de mazorca en cm (DMZ/LMZ), altura de planta y de mazorca (ALPL/ALMZ) en cm.

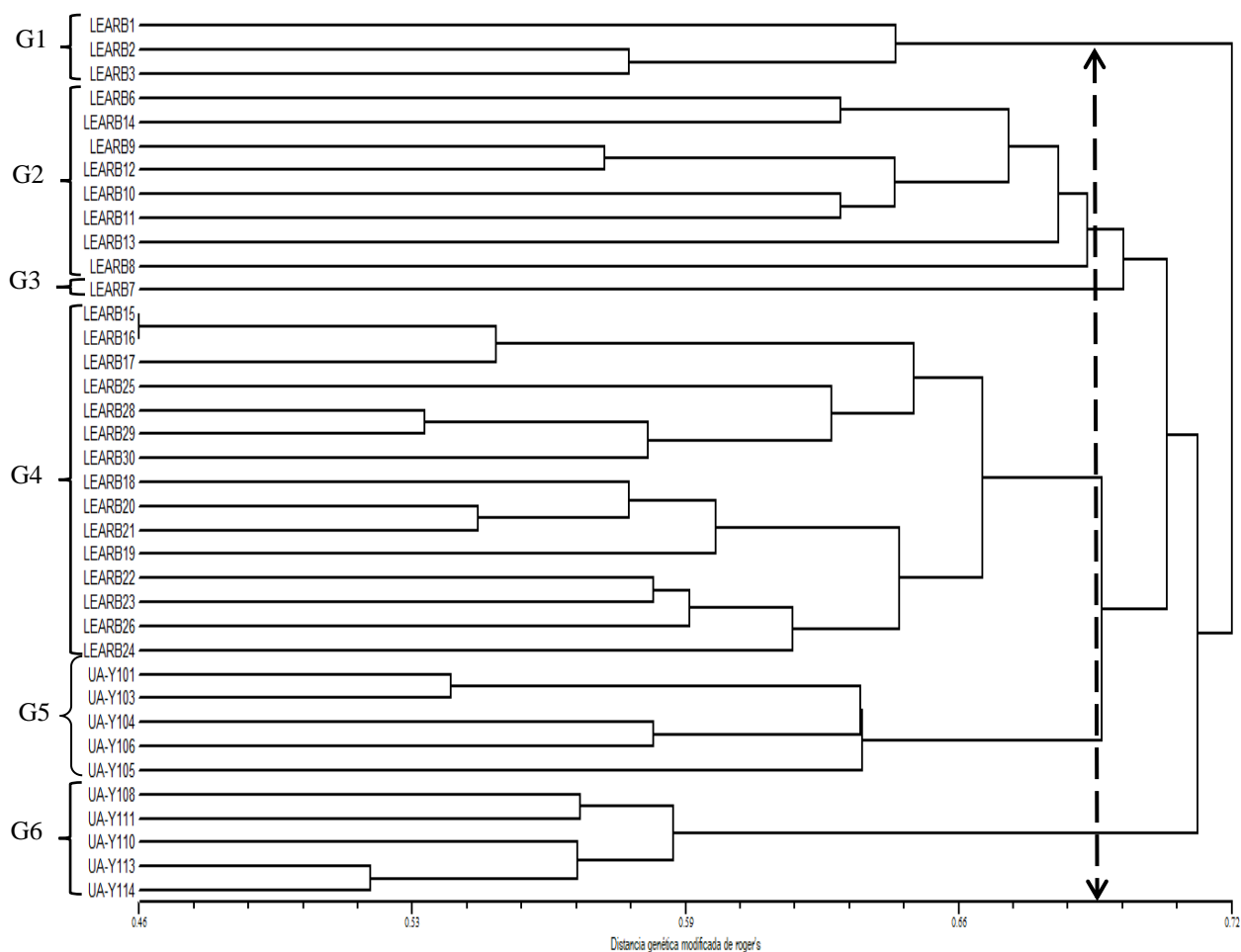
### **Análisis estadístico**

Se realizó un análisis de varianza y comparación de medias mediante la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) para las variables en estudio. Se llevó a cabo un análisis de regresión lineal de las distancias genéticas entre las líneas progenitoras como variable independiente contra rendimiento y sus componentes como dependientes. Para la ejecución de estos análisis se utilizó el programa estadístico de SAS® versión 9.3. (SAS Institute Inc., 2011).

## **1.5 Resultados y discusión**

### **Distancias genéticas y agrupamiento de líneas**

Las distancias genéticas observadas entre los pares de líneas fluctuaron de 0.465 hasta 0.771 (Matriz de distancias; datos no mostrados). En el dendrograma de la Figura 1.1 se observa el agrupamiento de las líneas, lo que permite visualizar la relación entre las mismas.



**Figura 1. Agrupamiento de 37 líneas de maíz en grupos de similitud de acuerdo con las distancias genéticas modificadas de Rogers.**

Los genotipos de INIFAP y de la UAAAN se concentraron en grupos diferentes; 27 líneas del INIFAP se ubicaron en los grupos 1, 2, 3, 4 y los genotipos provenientes de la UAAAN se distribuyeron en los grupos 5 y 6, lo que indica que las líneas poseen diferente fondo genético. El agrupamiento de las líneas permitió observar una clasificación en la que se formaron grupos claramente definidos, y a su vez, que estos grupos corresponden en gran medida con los esperados según las procedencias genealógicas de las líneas. Cargnelutti Filho *et al.* (2008)



enfatan que la divergencia genética evaluada sobre la base de distancias genéticas entre poblaciones es un parámetro de predicción con alta probabilidad de éxito que permite identificar cruzas que optimizarán la heterosis, evitando al mismo tiempo características indeseables.

### **Identificación de híbridos simples con distancias genéticas divergentes**

Los pares de líneas con mayor distancia genética fueron LEARB11 × UAY111, LEARB9 × UAY111, LEARB9 × UAY113 y LEARB11 × LEARB7, con valores de 0.771, 0.767, 0.767 y 0.762, respectivamente. Los híbridos con menor divergencia genética fueron LEARB16 × LEARB15, LEARB17 × LEARB16, LEARB28 × LEARB29, UAY101 × UAY103, con valores de 0.465, 0.507, 0.533 y 0.539 (Cuadro 1.2). Las 20 combinaciones predichas con mayor DG derivan de genotipos que se ubican en diferentes grupos y, por lo tanto, con alta divergencia genética entre ellas, con buen desempeño predicho en campo. De acuerdo con Bruel *et al.* (2006), cuando se utilizan técnicas de predicción mediante la divergencia genética de los progenitores para programar cruzas se reduce el número de combinaciones, ya que se evita hacer cruzas entre progenitores con baja divergencia genética, pues generarían híbridos menos productivos. Al respecto, Oliboni *et al.* (2012) mencionan que la heterosis que expresan las cruzas entre individuos de diferentes poblaciones depende de la presencia de genes con efectos no aditivos y de la divergencia entre ellos, la cual está relacionada con la magnitud de distancias genéticas entre las poblaciones; por lo tanto, se esperaría que la magnitud de la heterosis fuese aproximadamente proporcional a la distancia genética entre los padres.

**Cuadro 1.2. Grupos de pares de líneas clasificados por la magnitud de las distancias genéticas modificadas de Rogers.**

Mayor distancia genética					Distancias genéticas intermedias						
No.	Líneas	G	Líneas	G	DG	No.	Líneas	G	Líneas	G	DG
1	LEARB11	2	UAY111	5	0.771	24	LEARB6	2	LEARB21	4	0.693
2	LEARB9	2	UAY111	5	0.767	25	LEARB22	4	LEARB9	2	0.693
3	LEARB9	2	UAY113	5	0.767	26	LEARB16	4	LEARB14	2	0.688
4	LEARB11	2	LEARB7	3	0.762	27	LEARB14	2	LEARB17	4	0.688
5	LEARB16	4	LEARB10	2	0.762	28	LEARB1	1	LEARB13	2	0.683
6	LEARB2	1	LEARB19	4	0.762	29	LEARB14	2	LEARB12	2	0.683
7	LEARB19	4	LEARB10	2	0.762	30	LEARB2	1	LEARB8	2	0.663
8	LEARB6	2	LEARB29	4	0.762	Menor distancia genética					
9	LEARB22	4	UAY110	5	0.762	31	LEARB28	4	LEARB24	4	0.598
10	LEARB8	2	UAY114	5	0.762	32	LEARB20	4	LEARB19	4	0.593
11	LEARB18	4	LEARB10	2	0.758	33	LEARB23	4	LEARB24	4	0.593
12	LEARB1	1	LEARB20	4	0.758	34	UAY114	5	UAY110	5	0.593
13	LEARB22	4	LEARB2	1	0.758	35	UAY103	6	UAY104	6	0.593
14	LEARB30	4	LEARB10	2	0.758	36	LEARB26	4	LEARB23	4	0.587
15	LEARB3	1	UAY101	6	0.758	37	UAY104	6	UAY106	6	0.587
16	UAY104	6	LEARB1	1	0.753	38	LEARB3	1	LEARB2	1	0.581
17	LEARB3	1	LEARB16	4	0.753	39	LEARB21	4	LEARB19	4	0.581
18	LEARB20	4	LEARB13	2	0.753	40	LEARB12	2	LEARB9	2	0.575
19	LEARB22	4	LEARB10	2	0.753	41	LEARB18	4	LEARB21	4	0.575
20	LEARB11	5	LEARB3	3	0.749	42	UAY113	5	UAY108	5	0.569
Distancia genética intermedia					43	UAY101	6	UAY103	6	0.539	
21	LEARB1	1	LEARB7	3	0.697	44	LEARB28	4	LEARB29	4	0.533
22	LEARB7	3	LEARB8	2	0.697	45	LEARB17	4	LEARB16	4	0.507
23	LEARB16	4	LEARB11	2	0.693	46	LEARB16	4	LEARB15	4	0.465

LEARB: líneas experimentales de maíz amarillo de Río Bravo, UAY: líneas de Universidad Agraria Antonio Narro, G: grupos, DG: distancia genética.

## Resultados de campo

El análisis de varianza (Cuadro 1.3) arrojó diferencias significativas ( $P \leq 0.01$ ) entre genotipos para las variables rendimiento (REND), porcentaje de desgrane (PDG), porcentaje de humedad (PHU), número de hileras (NH), relaciones de diámetro/longitud de mazorca (DMZ/LMZ), altura de planta/altura de mazorca (ALPL/ALMZ), donde probablemente la divergencia genética encontrada entre las líneas progenitoras involucradas en la formación de los híbridos jugó un papel importante. Al respecto Falconer y Mackay (1996) mencionan que existe una relación positiva entre la heterosis de un híbrido y las distancias genéticas de sus padres.

**Cuadro 1.3. Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza de 46 híbridos de cruzas simples de maíz amarillo con información molecular.**

F.V	GL	REND	PDG	PHU	NH	DMZ	LMZ	ALPL	ALMZ
Localidades (L)	1	901.0**	32.8*	893.5**	239.3**	24.4**	133.2**	109920.5**	52511.7**
Repeticiones/L	4	8.3**	57.1**	49.5**	1.6	0.1**	22.5**	265.8*	85.5
Genotipos (G)	45	7.6**	37.5**	12.7**	5.2**	0.3**	8.9**	1170.23**	323.4**
G × L	45	1.0**	14.5**	2.5	1.0	0.0**	1.4*	103.2	49.6
Error	18	0.6	6.3	2.5	0.7	0.0	0.9	83.7	47.6
	0								
C.V. (%)		13.4	2.9	12.0	5.9	3.0	6.5	4.7	10.6
Media		5.8	84.4	13.7	14.1	4.2	14.6	192.5	64.8

\*, \*\*: significativo a 0.05 y 0.01, respectivamente. F.V: fuentes de variación, GL: grados de libertad,

REND: rendimiento de grano, PDG: porcentaje de desgrane de la mazorca, PHU: porcentaje de humedad del grano, NH: número de hileras, DMZ: diámetro de mazorca, LMZ: longitud de mazorca, ALPL: altura de planta, ALMZ: altura de mazorca, C.V.: coeficiente de variación.

En cuanto a localidades también se presentaron diferencias estadísticas ( $P \leq 0.01$ ) para casi todas las variables de estudio, con excepción de PDG, con significancia ( $P \leq 0.05$ ). Los resultados encontrados se deben, posiblemente, a las diferentes condiciones ambientales y físico-químicas del suelo en cada localidad de estudio. En relación con la interacción genotipo  $\times$  localidad, se encontraron diferencias ( $P \leq 0.01$  y  $0.05$ ) en rendimiento, porcentaje de desgrane, diámetro y longitud de mazorca. Estos resultados concuerdan con los de Ghosh *et al.* (2014) quienes encontraron que los componentes de rendimiento en maíz varían entre genotipos y localidades, por lo que es complicado la selección de genotipos con adaptación a las condiciones ambientales en diversas localidades.

En el Cuadro 1.4 se presenta la comparación de medias de diez híbridos, que corresponde al 20 % en relación al total del número de cruzas formadas, donde las primeras cinco cruzas superaron en gran medida a la media del experimento con base en rendimiento y demás variables. Los genotipos oscilaron en rendimiento entre 3.2 y 9.1 t ha<sup>-1</sup>, sobresaliendo de manera notoria los híbridos LEARB9  $\times$  UAY113, LEARB3  $\times$  UAY101 y LEARB9  $\times$  UAY111, cruzas en pares de líneas predichas con mayores distancias genéticas. Así mismo, los híbridos del 6 al 10 son los que presentaron inferioridad en sus componentes de rendimiento, ya que sus progenitores provienen de cruzas con distancias genéticas bajas.

Con base en la media general (5.8 t ha<sup>-1</sup>), se obtuvieron 20 híbridos superiores, lo que sugiere que alrededor del 55 % de las combinaciones híbridas exhibieron altos rendimientos con relación a sus distancias genéticas, 15 % con distancias genéticas intermedias y 30 % fueron con DG baja.

Por lo tanto, se observa una asociación positiva, donde la divergencia parental y distancias genéticas altas tienden a producir híbridos con altos rendimientos. Al respecto Ghosh *et al.*

(2018) observaron que al cruzar líneas con divergencia genética intermedia producen genotipos con rendimiento superiores a sus progenitores.

En cuanto a PDG, se encontraron materiales con valores de 75.7 a 86.9 %, lo que permite identificar materiales con alto porcentaje de desgrane en mazorca, lo cual puede contribuir a un mayor rendimiento. Para PHU, las cruzas fluctuaron de 10.4 a 17.1 %, lo que permite clasificar genotipos con característica de precocidad, tardíos e intermedios.

**Cuadro 1.4. Medias de diez híbridos (H) de maíz con mayor (H 1-5) y menor (H 6-10) rendimiento y sus componentes con relación a sus distancias genéticas en Díaz Ordaz y Río Bravo, Tamaulipas, México.**

No.	Híbridos	REND	PDG	PHU	NH	DM	LM	ALPL	ALMZ
1	LEARB9 × UAY113	9.1 a	86.9	15.5 a-d	13.7 c-h	4.6 a-e	16.2 a-d	193.2 a-e	70.0 a-d
			abc						
2	LEARB3 × UAY101	8.2 ab	85.3 a-e	16.8 ab	14.4 b-g	4.5 a-h	16.3 abc	206.0 a	71.3 a-d
3	LEARB9 × UAY111	7.9 abc	84.4 a-e	16.6	14.4 b-g	4.7 a-d	16.3 abc	205.5 ab	80.0 ab
				abc					
4	UAY103 × UAY104	7.4 a-d	82.9 b-e	17.1 a	14.2 c-g	4.5 a-g	15.0 b-j	178.9 d-g	61.7 c-f
5	UAY104 × LEARB1	7.3 a-e	84.7 a-e	14.6 a-e	13.5 c-h	4.3 e-l	14.6 b-k	195.0 a-e	68.3 a-d
6	LEARB28 × LEARB29	4.6 j-m	81.9 c-f	10.4 f	13.6 c-h	4.0 nop	18.1 a	187.6 a-f	69.3 a-d
7	LEARB16 × LEARB11	4.2 klm	84.0 a-e	12.4 def	14.1 c-g	4.1 j-n	13.5 f-k	196.1 a-e	59.1 c-f
8	LEARB16 × LEARB15	4.1 ml	83.3 a-e	11.6 ef	12.0 h	4.0 nop	13.9 e-k	184.6 b-f	49.8 fg
9	UAY113 × UAY108	3.3 m	75.7 g	13.9 a-f	14.4 b-g	4.1 j-n	12.8 jk	124.5 h	40.1 g
10	LEARB17 × LEARB16	3.2 m	81.8 c-f	12.0 def	12.8 fgh	3.7 p	13.1 ijk	175.8 efg	50.5 efg
	Media general	5.8	84.4	13.7	14.1	4.2	14.6	192.5	64.8
	DSH (0.05) de Tukey	1.80	5.8	3.6	1.9	0.2	2.2	21.1	16.0

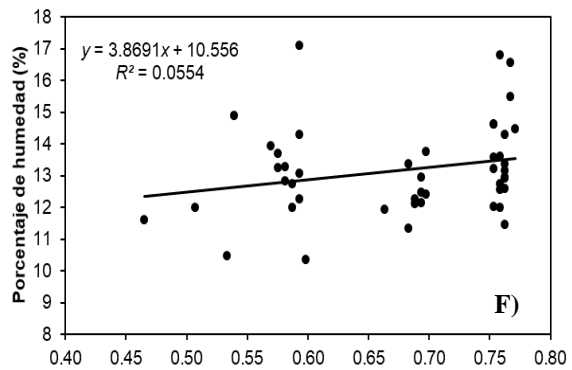
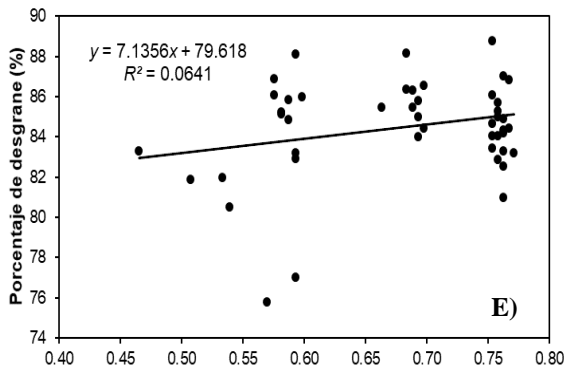
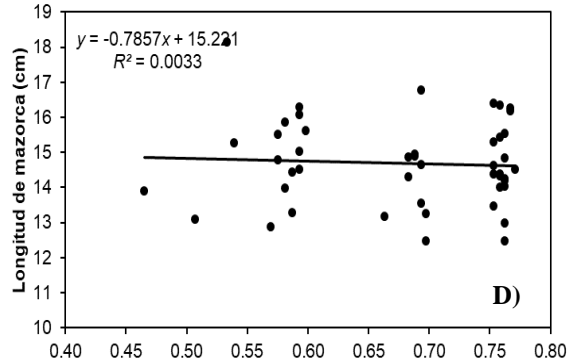
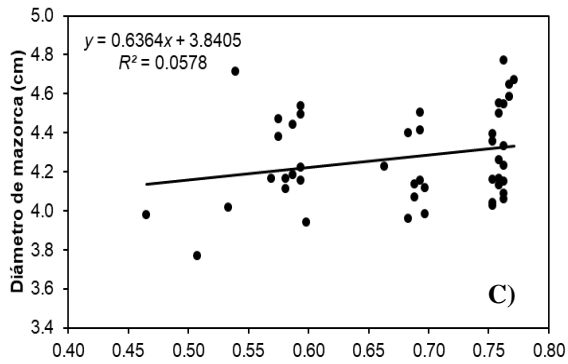
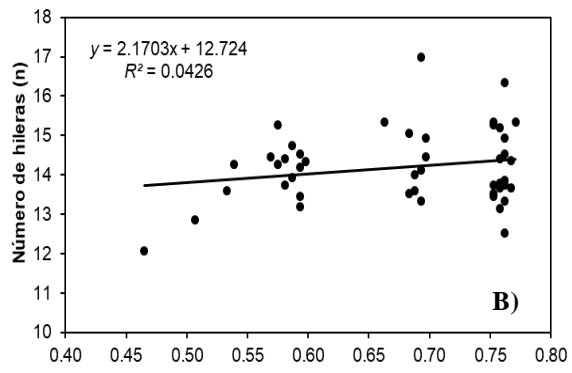
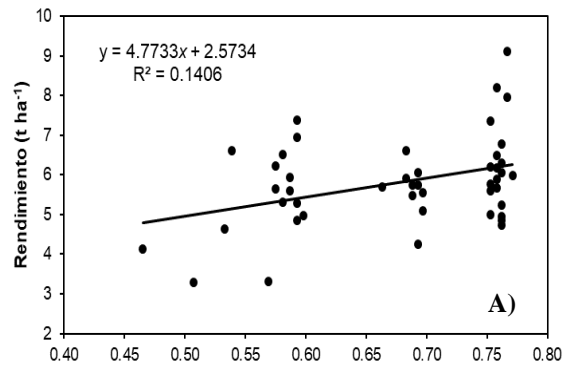
REND: rendimiento de grano en t ha<sup>-1</sup>, PDG: porcentaje de desgrane, PHU: porcentaje de humedad del grano a la cosecha, NH: número de hileras, DMZ: diámetro de mazorca, LMZ: longitud de mazorca, ALPL: altura de planta, ALMZ: altura de mazorca, DSH: diferencia significativa honesta.

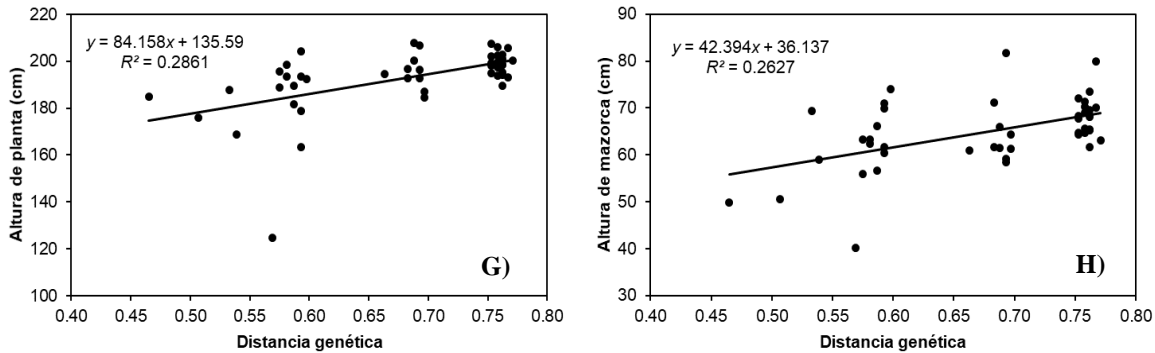
Las cruzas con mayor NH fueron LEARB3 × UAY101, LEARB9 × UAY111 y UAY113 × UAY108 con valores de 14.4. Para el caso de DM los valores oscilaron entre 3.7 y 4.7, sobresaliendo el híbrido LEARB9 × UAY111. En cuanto a LM los genotipos sobresalientes son LEARB28 × LEARB29, LEARB3 × UAY101 y LEARB9 × UAY111, con valores de 18.1 y 16.3 cm. Con respecto a ALPL y ALMZ, los materiales sobresalientes fueron LEARB3 × UAY101 y LEARB9 × UAY111. Así mismo, se observa en el Cuadro 1.4 que los híbridos predichos con menores distancias genéticas tienden a tener de manera general una reducción en sus componentes de rendimiento, debido al nivel de coancestría involucrado en las combinaciones de pares de líneas.

### **Análisis de regresión**

El análisis de regresión lineal entre las distancias genéticas (DG) de las líneas progenitoras con el rendimiento (REND) de los híbridos resultantes mostró significancia estadística ( $P \leq 0.01$ ) para el modelo, con un coeficiente de regresión de  $4.77 \text{ t ha}^{-1}$  y un coeficiente de determinación  $R^2 = 0.14$ , lo que indica que las líneas con mayor DG generan híbridos de mayor rendimiento (Figura 2 A), con incrementos de  $0.477 \text{ t ha}^{-1}$  por cada décima de aumento en sus distancias genéticas determinadas por los microsatélites. Si bien el coeficiente de determinación es relativamente bajo, el esquema puede ser útil para predecir por sí mismo híbridos sobresalientes o por lo menos para reducir el volumen de materiales involucrados en las evaluaciones de líneas por sus efectos de ACG y ACE, con el consecuente ahorro de recursos económicos, tiempo y esfuerzos que estas evaluaciones implican dentro de un programa de mejoramiento genético. En un estudio realizado por Demail *et al.* (2019) se encontró que la distancia genética basada en SSR no pudo ser un predictor confiable, ya que se obtuvo una relación baja y no significativa entre las distancias

genéticas basadas en SSRs y el rendimiento de los híbridos, la heterosis y el ACE para todos los rasgos observados.





**Figura 2. Distancia genética vs. A) Rendimiento, B) Número de hileras, C) Diámetro de mazorca, D) Longitud de mazorca, E) Porcentaje de desgrane en mazorca, F) Porcentaje de humedad en grano, G) Altura de planta y H) Altura de mazorca.**

Por su parte, Crossa *et al.* (2014) encontraron estimaciones intermedias para el rendimiento de grano y concluyeron que al aumentar la densidad de los marcadores aumenta la capacidad de predicción de los modelos en la mayoría de las combinaciones predichas.

Con respecto a las variables de NH y DMZ (Figuras 2 B y C), éstas mostraron coeficientes de regresión lineal positivos de 2.17 y 0.63 cm, pero sin significancia estadística para el modelo, con coeficientes de determinación de  $R^2 = 0.04$  y  $0.05$  %, respectivamente, lo que indica que el modelo de regresión lineal en función de distancias genéticas tuvo una pobre asociación en estas variables. En lo referente a la variable LMZ se encontró un coeficiente de regresión negativo y no significativo de  $-0.785$  cm y coeficiente de determinación  $R^2 = 0.003$ , lo cual demuestra que no existe una relación directa entre las distancias genéticas y LMZ (Figura 2 D). Resultados diferentes encontraron Tomkowiak *et al.* (2020) al evaluar varios marcadores moleculares en relación a las distancias genéticas en la expresión de la heterosis en maíz, y concluyeron que cuanto mayor sea la distancia genética determinada mediante marcadores SSR, mayor será el efecto de la heterosis para longitud de mazorca, diámetro de mazorca y número de hileras



En la Figura (2 E) se observa una respuesta positiva con significancia estadística ( $P \leq 0.05$ ) en la variable porcentaje de desgrane en mazorca (PDG), con un coeficiente de regresión del 7.13 % y coeficiente de determinación de  $R^2 = 0.06$ ; lo anterior indica que por cada décima de distancia genética en proporción a sus progenitores se presenta un aumento en PDG del 0.713; así mismo, se infiere que a mayor divergencia genética existente entre los padres involucrados en las combinaciones híbridas, el PDG de su progenie será mayor, pues es deseable un mayor porcentaje de desgrane de las mazorcas; caso contrario ocurrió en porcentaje de humedad (PHU), ya que obtuvo una respuesta positiva, pero sin significancia estadística (Figura 2 F); el PHU obtuvo un coeficiente de regresión del 3.86 % y coeficiente de determinación de  $R^2 = 0.05$ .

En cuanto a las variables de altura de planta y de mazorca (Figura 2 G y H) se observaron respuestas positivas y alta significancia estadística del modelo ( $P \leq 0.01$ ), con coeficientes de regresión de 84.15 cm para ALPL y 42.39 cm en ALMZ; así mismo, los coeficientes de determinación para estas variables fueron  $R^2 = 0.28$  y  $0.26$ , respectivamente. Las altas significancias expuestas para estas variables se pueden atribuir a que existe una relación moderada en ALPL y ALMZ con respecto a sus distancias genéticas, y de hecho se sabe que ambas variables están estrechamente correlacionadas. Caso contrario fue reportado por Dhliwayo *et al.* (2009), quienes encontraron que las distancias genéticas no se asociaron de manera significativa con altura de planta y de mazorca de híbridos de maíz entre líneas del CIMMYT y del Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA) de Nigeria.

## 1.6 Conclusiones

La efectividad en la predicción de híbridos sobresalientes de cruas simples de maíz amarillo, con base en las distancias genéticas de sus progenitores, depende de la variable de interés. Para el

caso de la variable rendimiento, el análisis de regresión lineal reveló una asociación baja, pero significativa ( $P \leq 0.01$  y  $0.05$ ) entre DG vs REND, con coeficientes de regresión de  $4.77 \text{ t ha}^{-1}$  y con coeficientes de determinación  $R^2 = 0.14$ . Las variables de porcentaje de desgrane, número de hileras, diámetro de mazorca, porcentaje de humedad, longitud de mazorca y rendimiento tienen una relación baja entre sus distancias genéticas, en tanto que, las características de altura de planta y de mazorca tuvieron asociación moderada y con significancia estadística. Se identificaron tres híbridos sobresalientes en rendimiento y sus componentes, que combinaron pares de líneas con las mayores distancias genéticas. Los marcadores moleculares de tipo SSR mostraron un poder moderado en la predicción del desempeño de híbridos de cruce simple de maíz, pero con la ventaja de ahorros en tiempo y recursos al no involucrar pruebas de aptitud combinatoria. Se aporta evidencia sobre la factibilidad de utilizar SSRs como una herramienta eficaz dentro de un programa de mejoramiento genético para la generación de nuevos híbridos.

### 1.7 Literatura citada

- Balestre M., J. C. Machado, J. L. Lima, J. C. Souza and L. Nóbrega-Filho (2008)** Genetic distance estimates among single cross hybrids and correlation with specific combining ability and yield in corn double cross hybrids. *Genetics and Molecular Research* 7:65-71, <https://doi.org/10.4238/vol7-1gmr403>
- Bruel D. C., V. Carpentieri-Pípolo, A. C. Gerage, N. S. Fonseca Júnior, C. E. C. Prete, C. F. Ruas, ... and D. D. Garbuglio (2006)** Genetic distance estimated by RAPD markers and its relationship with hybrid performance in maize. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 41:1491-1498, <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006001000006>
- Cargnelutti-Filho A., N. D. Ribeiro, R. C. P. Reis, J. R. Souza e E. Jost (2008)** Comparação de métodos de agrupamento para o estudo da divergência genética em cultivares de feijão. *Ciência Rural* 38:2138-2145, <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000800008>
- Cho Y. L., C. W. Park, S. W. Kwon, J. H. Ching, H. S. Ji, K. J. Park, ... and H. J. Koh (2004)** Key DNA markers for predicting heterosis in  $F_1$  hybrids of japonica rice. *Breeding Science* 54:389-397, <https://doi.org/10.1270/jsbbs.54.389>

- CIMMYT, Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (2006)** Protocolos de Laboratorio. Laboratorio de Genética Molecular Aplicada. Tercera edición. CIMMYT. México D. F. 92 p.
- Crossa J., P. Pérez, J. Hickey, J. Burgueño, L. Ornella, J. Cerón-Rojas, ... and K. Mathews (2014)** Genomic prediction in CIMMYT maize and wheat breeding programs. *Heredity* 112:48-60, <https://doi.org/10.1038/hdy.2013.16>
- Dermail A., S. Bhalang, C. Sompong, S. Jirawat and L. Kamol (2019)** Hybrid prediction based on SSR-genetic distance, heterosis and combining ability on agronomic traits and yields in sweet and waxy corn. *Scientia Horticulturae* 259, 108817, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108817>
- Dhliwayo T., K. Pixley, A. Menkir and M. Warburton (2009)** Combining ability, genetic distances, and heterosis among elite CIMMYT and IITA tropical maize inbred lines. *Crop Science* 49:1201-1210, <https://doi.org/10.2135/cropsci2008.06.0354>
- Falconer D. S. and T. F. C. Mackay (1996)** Introduction to Quantitative Genetics. 4th ed. Longman. Essex, England. 464 p.
- Ghosh A., P. K. Das, A. Ghosh and S. Kundagrami (2018)** Heterosis, potence ratio and genetic distance for yield and yield contributing traits in single cross maize hybrids. *Maydica* 63:1-9.
- Ghosh A., V. Subbar, A. Roy, A. Ghosh and S. Kundagrami (2014)** Genetic variability and character association of grain yield components in some inbred lines of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Agroecology and Natural Resource Management* 12:34-39.
- Lobato-Ortiz R., J. D. Molina-Galán, J. J. López-Reynoso, J. A. Mejía-Contreras y D. Reyes-López (2010)** Criterios para elegir el mejor probador de la aptitud combinatoria general para rendimiento de grano de líneas autofecundadas de maíz. *Agrociencia* 44:17-30.
- Márquez S. F. (1988)** Genotecnia Vegetal. Métodos, Teoría, Resultados. Tomo II. A.G.T. Eds. S.A. México, D, F. 665 p.
- Mohammadi S. A, B. M. Prasanna, C. Sudan and N. N. Singh (2008)** SSR heterogenic patterns of maize parental lines and prediction of hybrid performance. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 22:541-547, <https://doi.org/10.1080/13102818.2008.10817508>
- Morata M. M., D. A. Presello y M. P. González (2006)** Aptitud combinatoria para rendimiento entre líneas de maíz derivadas de nuevas fuentes de resistencia al Mal de Río Cuarto. *Revista de la Facultad de Agronomía, La plata* 106:69-83.
- Ni J., P. M. Colowit and D. J. Mackill (2002)** Evaluation of genetic diversity in rice subspecies using microsatellite markers. *Crop Science* 42:601-607, <https://doi.org/10.2135/cropsci2002.6010>

- Oliboni R., M. V. Faria, M. Neumann, G. M. Battistelli, R. G. Tegoni and J. T. V. Resende (2012)** Genetic divergence among maize hybrids and correlations with heterosis and combining ability. *Acta Scientiarum Agronomy* 34:37-44, <https://doi.org/10.1590/S1807-86212012000100006>
- Rohlf F. J (2009)** NTSYSpc: Numerical Taxonomy System. Ver. 2.21c. Exeter Software: Setauket: New York.
- SAS Institute (2011)** SAS/STAT® 9.3 User's Guide. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA. 8640 p.
- Schrag T. A., J. Möhring, A. E. Melchinger, B. Kusterer, B. S. Dhillon, H. P. Piepho and M. Frisch (2010)** Prediction of hybrid performance in maize using molecular markers and joint analyses of hybrids and parental inbreds. *Theoretical and Applied Genetics* 120, 451-461, <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1208-x>
- Tomkowiak, A., J. Bocianowski, M. Kwiatek and P. L. Kowalczewski (2020)** Dependence of the heterosis effect on genetic distance, determined using various molecular markers, *Open Life Sciences* 15:1-11, <https://doi.org/10.1515/biol-2020-0001>
- Valadez E. y G. Kahl (2000)** Huellas de ADN en Genomas de Plantas: Teoría y Protocolos de Laboratorio. Ed. Mundi Prensa. México. D.F. 147 p.
- Warburton M., X. Xianchun, J. Crossa, J. Franco, A. Melchinger, M. Frisch, ... and D. Hoisington (2002)** Genetic characterization of CIMMYT inbred maize lines and open pollinated populations using large scale fingerprinting methods. *Crop Science* 42:1832-1840, <https://doi.org/10.2135/cropsci2002.1832>
- Wright S (1978)** Evolution and the Genetic of Populations. Vol. 4. Variability Within and Among Natural Populations. University of Chicago Press. Chicago, USA. 590 p.

## **CAPÍTULO II. DESARROLLO DE HÍBRIDOS DE MAÍZ DE CRUZA SIMPLE CON DIFERENTES ESTRATEGIAS DE SELECCIÓN DE PROGENITORES**

### **2.1 Resumen**

El éxito de un programa de mejoramiento genético por hibridación depende de la correcta selección de sus progenitores y el uso eficiente de los métodos genotécnicos para la formación de los híbridos. El objetivo del presente estudio fue evaluar la eficiencia de la selección de progenitores de híbridos de maíz de cuza simple mediante marcadores moleculares de tipo microsatélite en comparación con la prueba de líneas *per se* y pruebas de aptitud combinatoria general. Para la formación de los híbridos se utilizaron 27 líneas de maíz del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícola y Pecuarias (INIFAP) y 10 de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). Se generaron 20 híbridos de cruza simple con información molecular con base en la divergencia genética de las líneas parentales, 28 híbridos con información de la evaluación de las líneas *per se* y 15 híbridos con información de aptitud combinatoria general mediante evaluación de mestizos, y se usaron 7 testigos comerciales de la región norte de Tamaulipas, México. La evaluación de los híbridos se realizó en dos localidades de Tamaulipas, mediante un diseño látice  $10 \times 10$  con tres repeticiones. Se evaluaron las variables de rendimiento de grano (REND), porcentaje de desgrane en mazorca (PDG), número de hileras (NH), diámetro y longitud de mazorca (DMZ, LMZ), días a floración masculina y femenina (DFM, DFF), altura de planta y de mazorca (ALPL, ALMZ). Se realizó un análisis de varianza combinado con los 70 híbridos y contrastes ortogonales con las medias de los híbridos obtenidos con las tres estrategias de selección de progenitores. Se detectaron diferencias significativas en todas las variables entre los genotipos ( $P \leq 0.01$ ), entre ambientes ( $P \leq 0.01$  y  $P \leq 0.05$ ) y en la interacción genotipo  $\times$  ambiente ( $P \leq 0.01$  y  $P \leq 0.05$ ) sólo en las variables NH, DMZ, DFM y DFF. Los híbridos con rendimiento superior a los  $9 \text{ t ha}^{-1}$  fueron P3097, P3092, 30F53 y

LEARB9 × UAY113, este último obtenido mediante las estrategias de marcadores moleculares con mayor distancia genética entre pares de líneas. Los contrastes ortogonales mostraron diferencias estadísticas ( $P \leq 0.01$ ) para el método molecular vs evaluación de líneas *per se* y aptitud combinatoria general por prueba de mestizos para las variables de REND, DMZ, ALPL y ALMZ; así mismo, se detectó significancia ( $P \leq 0.01$ ) en el método *per se* vs. mestizos en ALPL y ALMZ. Los marcadores moleculares de tipo SSRs revelaron información útil para la formación de híbridos simple de maíz con potencial para ser utilizados como herramientas auxiliares en los programas tradicionales de hibridación.

**Palabras clave:** *Zea mays* L., cruzamientos, hibridación, marcadores moleculares, métodos genotécnicos.

## 2.2 Summary

The success of a breeding program through hybridization depends on the correct selection of parents and the efficient use of breeding methods for the formation of hybrids. The objective of this study was to evaluate the efficiency of progenitors selection for single cross maize hybrids by means of molecular markers in comparison to the *per se* lines and general combining ability tests. Twenty-seven maize lines from the Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) and 10 from the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) were used to form the hybrids. Twenty single cross hybrids were generated with molecular information based on the genetic divergence of the parental lines, 28 hybrids with information from the evaluation of the lines *per se*, 15 hybrids with information on general combining ability through evaluation of crossbreeding, and 7 commercial hybrids from the northern region of Tamaulipas, Mexico were used as controls. The evaluation of hybrids was carried out in two

localities in Tamaulipas, by means of a  $10 \times 10$  lattice design with three replications. Traits of grain yield (GRY), percentage of grain on the ear (PGE), kernel row number (KRN), diameter and length of the ear (DE/LE), days to male and female flowering (DMF, DFF), and plant and ear height (PLH, EH) were evaluated. Analysis of variance combined across localities and orthogonal contrasts with the means of the hybrids obtained with the three strategies of parents selection for the 70 hybrids were carried out. Significant statistical differences were detected for all variables studied among genotypes ( $P \leq 0.01$ ), between environments ( $P \leq 0.01$  and  $P \leq 0.05$ ), and in the genotype  $\times$  environment interaction ( $P \leq 0.01$  and  $P \leq 0.05$ ) for traits KRN, DE, DMF and DFF. Hybrids with yields greater than  $9 \text{ t ha}^{-1}$  were P3097, P3092, 30F53 and LEARB9  $\times$  UAY113, the latter obtained using molecular marker strategies with greater genetic distance between line pairs. Orthogonal contrasts showed statistical differences ( $P \leq 0.01$ ) for the molecular method vs. evaluation of lines *per se* and general combining ability by top crosses test for traits GRY, DE, PLH and EH; likewise, significance ( $P \leq 0.01$ ) was detected between the *per se* method vs. top crosses method for PLH and EH. SSR molecular markers revealed useful information for the assembling of single-cross maize hybrids with potential to be used as assistance tools in traditional hybridization programs.

**Index words:** *Zea mays* L., breeding methods, crossing, hybridization, molecular markers.

### 2.3 Introducción

En los programas de mejoramiento genético es importante conocer el componente genético de las líneas que se usarán como progenitores en la formación de híbridos y variedades comerciales. En el mejoramiento de plantas, se han desarrollado métodos genotécnicos para la evaluación y selección de las líneas sobresalientes para formar híbridos; entre las técnicas más comunes se

encuentran la de evaluación de líneas *per se* para seleccionar aquellas con alto potencial de rendimiento, buen comportamiento agronómico y buena aptitud combinatoria (Buenrostro-Robles *et al.*, 2017) y la prueba de aptitud combinatoria general basada en la formación y evaluación de mestizos, que permite determinar los efectos genéticos aditivo de las líneas (Sánchez-Ramírez *et al.*, 2020). Estas técnicas juegan un papel importante dentro de un programa de desarrollo de híbridos, al proporcionar información para identificar y seleccionar materiales que posiblemente producirán progenie que presente altos niveles de heterosis en el rendimiento y sus componentes (Vélez-Torres *et al.*, 2018); sin embargo, esto conlleva un alto costo, tiempo y esfuerzo de los fitomejoradores en las evaluaciones y selección de las líneas.

Por otro lado, gracias a los avances en la biología molecular, se han desarrollado métodos de identificación y caracterización basados en el uso de marcadores moleculares que superan, en la gran mayoría de los casos, algunas limitaciones de los métodos tradicionales (Azofeita –Delgado, 2006). Bajo este contexto, el uso de los marcadores moleculares de tipo microsatélites o SSRs podría ser una alternativa como auxiliar de los métodos de mejoramiento tradicionales, ya que puede proporcionar información a nivel genético de las líneas que será útil en identificar a los progenitores para la generación de híbridos, de acuerdo con su divergencia genética, con el fin de involucrar cruzamientos en pares de líneas con relación a sus distancias genéticas.

Los programas de mejoramiento de maíz (*Zea mays* L.) han evaluado varios métodos tradicionales obteniendo diferentes niveles de éxito en la generación de híbridos (Acevedo-Cortés *et al.*, 2020; Ramírez-Díaz *et al.*, 2019; Rodríguez-Pérez *et al.*, 2020); así mismo, algunos investigadores han considerado el uso de los marcadores moleculares como auxiliar de los métodos tradicionales con la finalidad de predecir el desempeño heterótico de los progenitores al combinar pares de líneas en la formación de híbridos (Beyene *et al.*, 2019, Crossa *et al.*, 2017;



Lariépe *et al.*, 2017; Marcón *et al.*, 2019; Mwangangi *et al.*, 2019; Nyaga *et al.*, 2020); estas investigaciones han demostrado que el uso de marcadores moleculares son eficientes, ya que pueden dar predicciones precisas con relación a sus parámetros de rendimiento. Varios de estos estudios han investigado la exactitud de los métodos tradicionales y moleculares para la generación de híbridos; sin embargo, los centros de investigación dedicados al mejoramiento genético deben tomar en cuenta los gastos en recursos económicos, tiempo y esfuerzo que implica el uso de cada uno de ellos. A pesar de los avances a nivel mundial en la materia, en México las técnicas moleculares han sido poco estudiadas para su aplicación directa en mejoramiento genético, especialmente en hibridación de maíz. El objetivo de esta investigación fue comparar la eficiencia de los marcadores moleculares de tipo microsatélite o SSRs, en relación a los métodos genéticos tradicionales para generar híbridos de maíz en el norte de Tamaulipas, bajo la hipótesis de que con el uso de los SSRs se obtendrá como resultado la generación de híbridos sobresaliente en rendimiento.

## **2.4 Materiales y métodos**

### **Material vegetal**

Se utilizaron 37 líneas de maíz amarillo ( $S_3$  y  $S_5$ ) como progenitores para generar 63 híbridos de cruza simples. Del total de las líneas 27 fueron originadas en el Campo Experimental Río Bravo (CERIB), Tamaulipas del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícola y Pecuarias (INIFAP), codificadas como LEARB y 10 líneas provenientes de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), codificadas como UAY101, UAY103, UAY104, UAY105, UAY106, UAY108, UAY110, UAY111, UAY113 y UAY114. Los híbridos se realizaron con base en divergencia genética estimada con información molecular de marcadores

SSRs, evaluación de líneas *per se*, y selección de líneas por aptitud combinatoria general mediante la formación y evaluación de mestizos, las cuales se describen a continuación.

### **Formación de híbridos con información molecular**

#### **Extracción de ADN genómico**

Se realizó en primavera-verano del 2017 a partir de 100 mg de tejido del mesocótilo y coleótilo de tres plántulas individuales de ocho días de edad por línea, mediante un kit comercial para extracción de ADN (ChargeSwitch g DNA Plant Kit, Invitrogen®), con un robot de extracción KingFisher Flex (Thermo Scientific®, Waltham, Maryland, USA), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La concentración y calidad del ADN extraído fue determinada mediante lecturas de absorbancia a 260/280 nm en un espectrofotómetro de ultra bajo volumen (NanoDrop™ 2000c, Thermo Scientific®, Wilmington, USA).

#### **Genotipo de las líneas con microsatélites**

Se analizaron tres individuos de cada una de las líneas mediante 22 *loci* de secuencias simples repetidas de ADN (Cuadro 2.1). Los microsatélites utilizados se encuentran en la base de datos Maize Genetics and Genomics Database (<http://www.maizegdb.org/ssr.php>).

#### **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

Se llevó a cabo en un termociclador (Gene AMP PCR® System 9700, Singapur). La amplificación consistió en una desnaturalización inicial de 4 min a 95 °C, seguida de 24 ciclos de 1 min a 95 °C (desnaturalización), 2 min a 55 °C (alineación) y 2 min a 95 °C (extensión) y una extensión final de 1 h a 72 °C. Cada reacción individual consistió de 2 µL de 10X Buffer PCR (500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl, pH 9.0 at 25 °C), 0.4 µL de 10mM dNTPs (2.5 mM cada uno dNTP), 1.2 µL de 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 µL de Taq DNA polimerasa (1 unidad total), 2.5 µL de

ADN molde (10 ng  $\mu\text{L}^{-1}$ ), 2.0  $\mu\text{L}$  de 4 pM de cada par de iniciadores (1  $\mu\text{L}$  de cada uno, adelante y reversa) y 11.7  $\mu\text{L}$  de agua destilada dos veces.

**Cuadro 2.1. Loci de microsatélites e iniciadores utilizados para el estudio de microsatélites en líneas de maíz.**

Locus	BIN	Tamaño de fragmento (pb)	Iniciador hacia adelante//Iniciador en reversa
phi127	2.07	105–126	NED-ATATGCATTGCCTGGAAGGGA//AATTCAAACACGCCTCCCGAGTGT
phi051	7.06	136–154	6-FAM-GCGAAAGCGAACGACAACAATCTT//ACATCGTCAGATTATATTGCAGACCA
phi115	8.03	292–312	HEX-GCTCCGTGTTTCGCCTGAA//ACCATCACCTGAATCCATCACA
phi033	9.02	224–270	6-FAM-ATCGAAATGCAGGCGATGGTTCTC//ATCGAGATGTTCTACGCCCTGAAGT
phi072	4.01	134–163	6-FAM-GTGCATGATTAATTTCTCCAGCCTT//GACAGCGCGCAAATGGATTGAACT
phi093	4.08	272–296	NED-GTGCCTCAGCTTCATCGCCTACAAG//CCATGCATGCTTGCAACAATGGATACA
phi024	5.00	354–376	HEX-CTCCGCTTCCACTGTTCCA//TGTCCGCTGCTTCTACCCA
phi085	5.06	233–266	6-FAM-AGCAGAACGGCAAGGGCTACT//TTTGGCACACCACGACGA
phi121	8.04	93–105	6-FAM-AGGAAAATGGAGCCGGTGAACCA//TTGGTCTGGACCAAGCACATACAC
phi056	1.01	231–278	NED-ACTTGCTTGCCTGCCGTTAC//CGCACACCACTTCCCAGAA
phi064	1.11	75–121	HEX-CGAATTGAAATAGCTGCGAGAACCCT//ACAATGAACGGTGGTTATCAACACGC
phi96100	2.00 - 2.01	218–300	6-FAM-AGGAGGACCCCAACTCCTG//TTGCACGAGCCATCGTAT
phi101249	?	114–161	NED-TTCTCTCCTCCACTGCCTC//AAGAACAGCGAAGCAGAGAAGG
phi029	3.04	139–176	NED-TCTTTCTTCTCCACAAGCAGCGAA//TTTCCAGTTGCCACCGACGAAGAACTT
phi073	3.05	186–203	HEX-GTGCAGAGAGGCTTGACCAA//AAGGGTTGAGGGCGAGGAA
phi96342	10.XX	223–256	6-FAM-GTAATCCACGTCCTATCAGCC//TCCAACCTGAACGAACTCCTC
phi427913	1.XX	117–207	NED-CAAAAGCTAGTCGGGGTCA//ATTGTTTCGATGACACACTACGC
phi402893	2.00	205–243	HEX-GCCAAGCTCAGGGTCAAG//CACGAGCGTTATTTCGCTGT
phi308090	4.01 - 4.04	190–226	6-FAM-CAGTCTGCCACGAAGCAA//CTGTCCGGTTTCGGTCTTCTT
phi330507	5.02 - 5.06	128–161	NED-GTAAAGTACGATGCGCCTCCC//CGGGGTAGAGGAGAGTTGTG
phi213398	4.01 - 4.04	287–320	6-FAM-GTGACCTAAACTTGGCAGACCC//CAAGAGGTACCTGCATGGC
phi159819	6.00 - 6.08	119–139	6-FAM-GATGGGCCCTAGACCAGCTT//GCCTCTCCATCTCTCGGT

### Electroforesis y análisis de fragmentos

Los productos de PCR se evaluaron por electroforesis vertical (MG33-1063, C.B.S. Scientific® Del Mar California, EUA). Se emplearon geles de acrilamida al 8 % (CIMMYT, 2006), la separación de fragmentos de menor peso molecular (75-278 pb) se llevó a cabo durante 180 min a 250 volts, mientras que para fragmentos con mayor peso molecular (105-376 pb) la separación de fragmentos se efectuó durante 240 min a 250 volts. El revelado se hizo con AgNO<sub>3</sub> (Sigma®, EUA) de acuerdo con la metodología de CIMMYT (2006). Los geles se fotodocumentaron con un transluminador MiniBis Pro 16 mm (Bio Imaging Systems®, Jerusalén, Israel).

### **Análisis de la información molecular**

A partir de la lectura directa de los geles se generó un perfil alélico para cada una de las líneas y con esta información se generó una matriz de distancias genéticas de Rogers modificadas por Wright (1978) mediante el programa computacional NTSYS (Rohlf, 2009) y se realizó un análisis de conglomerados con base en las distancias genéticas mediante el método de agrupamiento UPGMA.

La formación de híbridos a partir de la información molecular se realizó en primavera-verano de 2018 en el Campo Experimental Río Bravo, Tamaulipas. Se generaron 20 cruzas simples con mayor distancia genética través de cruzas planta a planta en pares de líneas.

### **Formación de híbridos mediante evaluación de líneas *per se***

La evaluación de las líneas se realizó bajo condiciones de riego en el ciclo primavera-verano del 2018 en el Campo Experimental Río Bravo, Tamaulipas. El ensayo de las líneas se estableció bajo un diseño experimental de bloques completos al azar con tres repeticiones. La unidad experimental consistió de cuatro surcos de 5 m de largo con una separación entre surco de 0.82 m, con una densidad de población aproximada de 65,000 plantas por hectárea. Al momento de la

cosecha se colectaron 40 plantas con competencia completa para estimar variables de rendimiento y agronómicas. Se realizó un análisis de varianza utilizando el programa estadístico de SAS® versión 9.4 (SAS Institute Inc., 2011) y la comparación de medias mediante la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). Una vez analizados los resultados se seleccionaron ocho líneas sobresalientes con base en su información *per se*, que posteriormente se utilizaron para formar 28 híbridos de cruce simple en el ciclo otoño-invierno del 2019, a través de cruces dirigidas.

### **Formación y evaluación de mestizos y generación de híbridos con información de mestizos**

Se formaron 37 mestizos en el ciclo primavera-verano del 2018 mediante el establecimiento de las líneas en un lote aislado en el CERIB, Río Bravo, Tamaulipas, teniendo como probador a la línea LRB-3A proveniente del programa de mejoramiento genético del INIFAP-Campo Experimental Río Bravo, Tamaulipas. La evaluación de los mestizos se realizó en el ciclo otoño-invierno de 2019, en un diseño experimental de bloques completos al azar con tres repeticiones; la parcela experimental consistió de cuatro surcos de 5 m de largo con 0.82 m entre surco. Al momento de la cosecha se colectaron 40 plantas con competencia completa para estimar variables de rendimientos y agronómicas. Se realizó un análisis de varianza y una prueba de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) con el uso del programa estadístico de SAS versión 9.4 (SAS Institute Inc., 2011). Con la información generada de los mestizos se seleccionaron las mejores ocho líneas con base en sus parámetros de rendimiento y con ellas se logró la formación de 15 híbridos de cruce simple mediante polinizaciones manuales planta a planta en el ciclo primavera-verano de 2019.

### **Evaluación de los híbridos formados con las tres metodologías**

Se evaluaron en total 70 híbridos de maíz, de los cuales 63 son híbridos experimentales por el programa genético del INIFAP-CERIB y 7 híbridos comerciales de la región usados como testigos, las cuales son INIFAP (H-443A, 23 × 19), Syngenta (SYN307) y Pioneer (P3097, P3092, 30F53). Los híbridos de cruce simple generados se establecieron bajo condiciones de riego en las localidades de Río Bravo y Díaz Ordaz, en el norte del estado de Tamaulipas en el ciclo otoño-invierno de 2020.

### **Diseño experimental**

Los experimentos se establecieron bajo un diseño experimental de látice 10 × 10 con tres repeticiones en cada ambiente; la unidad experimental consistió en dos surcos de 5 m de longitud a una distancia entre surcos de 0.8 m y a una distancia entre plantas de 0.20 m con una densidad de población de 62,500 plantas ha<sup>-1</sup>.

### **Variabes evaluadas**

Se evaluaron los días a floración masculina y femenina (DFM y DFF), cuando el 50 % de las plantas presentaron anteras dehiscentes (floración masculina) y estigmas receptivos (floración femenina); altura de planta y de mazorca en cm (APL y AMZ) en cinco plantas representativas de la parcela para posteriormente registrar la altura promedio de la base del tallo hasta la hoja bandera y de la base del tallo hasta la inserción de la mazorca, respectivamente; diámetro y longitud de mazorca en cm (DMZ y LMZ) en cinco mazorcas representativas por parcela en la parte central y desde la base hasta la punta de la mazorca, respectivamente; número de hileras por mazorca (NH) en la parte media de la misma; porcentaje de desgrane (PDG), obtenido de la relación entre el peso del grano y el peso total de la mazorca; rendimiento de grano (REND), que fue estimado con base en el peso de campo de cada parcela, con el respectivo ajuste por el porcentaje de desgrane, extrapolando a t ha<sup>-1</sup> ajustado al 14 % de humedad.

## **Análisis estadístico**

Se realizó un análisis de varianza combinado a través de localidades y comparación de medias mediante la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) de las variables en estudio. El modelo aditivo lineal para el análisis combinado fue:

$$y_{ijk} = \mu + A_j + \beta_{k(j)} + C_i + (CA)_{ij} + e_{ijk}$$

Donde:  $y_{ijk}$  = observación del  $i$ -ésimo genotipo en el  $j$ -ésimo bloque y  $k$ -ésimo ambiente,  $\mu$  = media general,  $A_j$  = efecto del  $k$ -ésimo ambiente,  $\beta_{k(j)}$  = efecto del  $j$ -ésimo bloque dentro del  $k$ -ésimo ambiente,  $C_i$  = efecto del  $i$ -ésimo genotipo,  $(CA)_{ij}$  = efecto de la interacción entre el  $i$ -ésimo genotipo y el  $k$ -ésimo ambiente,  $e_{ijk}$  = efecto aleatorio del error de la unidad experimental.

Los híbridos formados con base en las mayores distancias genéticas entre sus progenitores (20 híbridos), 28 híbridos formados con información de líneas *per se* y 15 híbridos formados con base en aptitud combinatoria general de las líneas a través de mestizos fueron sometidos a un análisis de contrastes ortogonales, con el fin de comparar los tres métodos y observar la eficiencia relativa de cada uno de ellos en la formación de los híbridos. Para la ejecución del análisis de varianza combinado y contrastes ortogonales se utilizó el programa estadístico de SAS® versión 9.3 (SAS Institute Inc., 2011).

## **2.5 Resultados y discusión**

### **Análisis de varianza**

En el Cuadro 2.2 se observa que entre los genotipos hubo diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ) para rendimiento de grano (REND), porcentaje de desgrane (PDG), número de hileras (NH), diámetro y longitud de mazorca (DMZ/LMZ), días a floración masculina y femenina (DFM/DFF), altura de planta y de mazorca (ALPL/ALMZ). Las diferencias presentadas indican

amplia divergencia en los híbridos de cruza simple, ya que los progenitores involucrados en las combinaciones híbridas provienen de diferente fondo genético; por lo tanto, los resultados obtenidos indican que del conjunto de híbridos evaluados en la zona del norte de Tamaulipas al menos un genotipo es superior. Resultados similares fueron obtenidos por Ferdoush *et al.* (2017) al encontrar en el ANOVA un alto grado de variación entre los genotipos evaluados en relación con los parámetros de rendimiento; así mismo, Singh *et al.* (2017) revelaron diferencias significativas para los caracteres de rendimiento, lo que indicó la presencia de una variabilidad genética amplia. Al respecto, Guillén-de la Cruz *et al.* (2009) mencionan que al incrementar la diversidad genética de los padres también se incrementa las diferencias entre sus cruza, en características agronómicas y fisiológicas. En relación con la fuente de variación de ambientes, se detectó diferencias estadísticas altas ( $P \leq 0.01$  y  $0.05$ ) para REND, PDG, NH, DMZ, LMZ, DFF, DFM, ALPL y ALMZ. Al respecto, Cervantes-Adame *et al.* (2020) mencionan que las diferencias en la expresión de los caracteres de rendimiento se ven asociadas a factores genéticos y ambientales como lo es el clima, temperatura, precipitación altitud y latitud, principalmente. Estos resultados concuerdan con un estudio similar sobre selección de líneas y cruza de alta aptitud combinatoria para rendimiento y sus componentes realizado por Ramírez-Díaz *et al.* (2019). Con relación a la interacción de genotipo por ambiente se encontró significancia estadística ( $P \leq 0.01$  y  $0.05$ ) para las variables de NH, DM, DFM y DFF, lo que indica que los híbridos no mantuvieron una producción similar en los dos ambientes de evaluación; en teoría, esto reduce el progreso de la selección al ser una fuente de variación que sesga la correcta elección de genotipos superiores con adaptación a una región amplia.



**Cuadro 2.2. Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza en 96 híbridos de maíz amarillo en parámetros de rendimiento en Díaz Ordaz y Río Bravo, Tamaulipas, México, 2020.**

FV	GL	REND	PDG	NH	DMZ	LMZ	DFM	DFE	ALPL	ALMZ
Ambientes (A)	1	1202.5**	20.7*	307.8**	34.4**	120.6**	5913.7**	7518.4**	182833.7**	84603.6**
Reps/A	4	12.4**	125.4**	0.9	0.09**	30.3**	1.3	1.5	159.2	59.7
Subl/Reps × A	54	1.0	6.4	0.7	0.02	1.7**	1.0*	1.3**	123.5*	70.7**
Genotipos (G)	95	8.5**	17.4**	5.7**	0.2**	7.6**	18.9**	18.4**	369.3**	258.6**
G × A	86	0.9	5.7	0.9*	0.02**	0.9	1.7**	1.6**	90.2	54.7
Error	335	0.7	4.5	0.6	0.01	0.7	0.7	0.7	82.1	41.0
CV (%)		13.2	2.5	5.4	2.8	5.9	1.0	1.1	4.5	9.4
Media		6.5	85.2	14.1	4.3	14.9	78.1	79.3	197.5	67.4

\*, \*\*: significativo a  $P \leq 0.05$  y  $0.01$ , respectivamente. FV: fuentes de variación, GL: grados de libertad, REND: rendimiento de grano, PDG: porcentaje de desgrane, NH: número de hileras, DMZ: diámetro de mazorca, LMZ; longitud de mazorca, DFM: días a floración masculina, DFE: días a floración femenina, ALPL: altura de planta, ALMZ: altura de mazorca, Reps/A: repeticiones dentro de ambiente, Subl/Reps × A: subbloques dentro de repeticiones por ambiente, G × A: interacción genotipo por ambiente, CV: coeficiente de variación.

En una investigación realizada por Velázquez-Cárdelas *et al.* (2018) se indica que este fenómeno es una constante preocupación para los fitomejoradores, especialmente cuando su magnitud es grande, ya que obliga al mejorador a establecer ensayos en varias localidades para identificar materiales con mayor estabilidad y mayor rendimiento de grano, o bien, conduce a la recomendación de nuevos materiales a un área agrícola reducida, con la consecuente reducción en la eficiencia económica para la producción de semilla. El rendimiento en la presente investigación tuvo una media general de 6.2 t ha<sup>-1</sup>, valor superior a la media del estado de Tamaulipas que fue de 5.1 t ha<sup>-1</sup> en el año 2019 (SIAP, 2020), por lo cual, al menos una cruce experimental podría ser seleccionada para su uso comercial en la región noreste de México.

En el Cuadro 2.3 se presentan los mejores diez híbridos superiores con base en sus parámetros de rendimiento. De acuerdo con la prueba de medias, los híbridos testigos Pioneer P3097, P3092, 30F53 y el híbrido experimental LEARB9 × UAY113 fueron estadísticamente similares, con rendimientos de grano en 10.9, 10.6, 9.8 y 9.1 t ha<sup>-1</sup>, lo que indica que el híbrido experimental es competitivo en rendimiento con los híbridos de las empresas comerciales de la región norte de Tamaulipas. Así mismo, la cruce LEARB9 × UAY113 fue diferente estadísticamente al híbrido Syn307 (Syngenta) y H-443A (INIFAP), con rendimientos superiores de 300 y 800 kg ha<sup>-1</sup>, este último, es un genotipo liberado por el INIFAP en el noreste de México. Estos resultados difieren con los de Reyes *et al.* (2009), quienes obtuvieron rendimientos de 4.9 a 8.3 t ha<sup>-1</sup> y un promedio de 7.1 t ha<sup>-1</sup> en el híbrido H-443A, siendo competitivo con los testigos comerciales A-7573Y, P30F53 y D-2020Y, que produjeron 6.8, 6.9 y 7.3 t ha<sup>-1</sup>, respectivamente.

Dentro del conjunto de genotipos seleccionados (Cuadro 2.3), los híbridos experimentales LEARB9 × UAY113 y LEARB3 × UAY101 se generaron con información molecular a través de pares de líneas con mayor distancia genética.

**Cuadro 2.3. Medias de 10 híbridos de maíz amarillos generados con información molecular, de evaluación de líneas *per se* y pruebas de mestizos para parámetros de rendimiento en Díaz Ordaz y Río Bravo, Tamaulipas, México, 2020.**

Híbridos	REND	PDG	NH	DMZ	LMZ	DFM	DFF	ALPL	ALMZ
P3097	10.9 a	87.4 a-e	13.0 o-y	4.6 b-g	17.0 a-e	79.0 i-r	79.6 i-r	217.8 a	76.6 a-c
P3092	10.6 ab	86.6 a-g	15.4 a-j	4.8 ab	15.8 b-n	81.1 d-h	82.1 b-g	206.8 a-h	82.6 a
30F53	9.8 abc	87.8 a-e	15.6 a-g	4.9 a	18 ab	81 d-i	81.6 c-i	202.18 a-l	73.1 a-g
LEARB9 × UAY113 <sup>†</sup>	9.1 a-d	86.8 a-f	13.6 h-y	4.5 b-i	16.2 a-l	81.0 d-i	81.3 e-k	193.1 c-o	70.0 a-k
SYN307	8.8 b-e	88.6 abc	15.4 a-i	4.6 a-e	15.6 c-q	77.8 n-w	78.6 m-v	209.1 a-f	73.0 a-h
UAY103 × LEARB23	8.4 c-f	85.2 a-k	14.4 d-t	4.6 b-i	16.4 a-i	78.1 m-w	79 l-u	203.1 a-k	70.1 a-j
UAY103 × LEARB2	8.4 c-g	85.6 a-k	14.8 c-o	4.6 b-i	15.8 b-o	78.3 l-v	79.1 k-t	201.3 a-l	61.1 d-n
H-443A	8.3 c-h	85.4 a-k	13.8 g-y	4.4 d-q	16.1 a-m	81.8 c-f	82 c-h	190.3 e-p	79.8 abc
LEARB3 × UAY101 <sup>†</sup>	8.2 c-i	85.2 a-k	14.4 d-t	4.5 b-n	16.3 a-j	80.0 e-m	81.6 c-i	206.0 a-i	71.3 a-j
UAY103 × LEARB8	8.1 c-j	87.9 a-e	13.2 m-y	4.3 e-u	15.9 a-n	76.8 q-a	77.1 t-a	200.6 a-m	74.5 a-f

<sup>†</sup>Detectado con información molecular. REND: rendimiento de grano, PDG: porcentaje de desgrane, NH: número de hileras, DMZ: diámetro de mazorca, LMZ; longitud de mazorca, DFM: días a floración masculino, DFF: días a floración femenina, ALPL: altura de planta, ALMZ: altura de mazorca.

Al respecto Lariépe *et al.* (2017) encontraron que al involucrar las distancias genéticas entre las líneas parentales de los híbridos se estima mejor la capacidad de combinación potencial de las líneas endogámicas cuando se cruzan con líneas no relacionadas entre sí. Así mismo, Marcón *et al.* (2019) concluyeron que al utilizar marcadores moleculares de tipo SSR se tiene una relación significativa entre las distancias genéticas de los progenitores y la heterosis en algunos caracteres morfo-agronómicos.

Los híbridos UAY103 × LEARB23, UAY103 × LEARB2 y UAY103 × LEARB8 fueron formados con información de las líneas *per se*, lo que indica que las líneas progenitoras de dichos híbridos tienen una contribución importante en la expresión del rendimiento en grano, lo cual podría ser aprovechado en la liberación como híbridos de cruce simples o para generar variedades sintéticas dentro de un programa de mejoramiento genético de maíz (Guillén-De la Cruz *et al.*, 2009). Entre los híbridos generados con información de mestizos en este grupo selecto de híbridos no se identificó ningún material sobresaliente en rendimiento y sus componentes.

Para la variable PDG todas las cruzas se comportaron de manera similar en comparación con los híbridos comerciales, lo cual indican que los genotipos descubiertos tienen características favorables en porcentaje de desgrane, factor importante para obtener un buen rendimiento de grano. Con relación a número de hileras (NH) y diámetro de mazorca (DM), los testigos fueron superiores a los híbridos experimentales, con valores de 15.6 y 15.4 en NH al igual que en DM, con valores de 4.9, 4.8 y 4.6 en DM. Para LMZ, los genotipos sobresalientes fueron P3097, 30F53, LEARB9 × UAY113, UAY103 × LEARB23, H443A, UAY101 × LEARB3 y UAY103 × LEARB8. Resultados similares se han obtenido en diferentes estudios (Acevedo-Cortés *et al.*, 2020; Rodríguez-Pérez *et al.*, 2020; Sánchez-Ramírez *et al.*, 2020), al encontrar significancia en los parámetros de rendimiento en líneas de maíz y sus combinaciones.

Para días a floración masculina y femenina los genotipos oscilaron entre 76.8 y 81.8 para DFM, y entre 77.1 y 82.1 para DFF, mientras que para altura de planta y de mazorca los híbridos fueron de 190.3 a 217 cm en ALPL y de 61.1 a 82.6 cm en ALMZ. Estos resultados demuestran divergencia genética amplia de acuerdo al origen de las líneas usadas como progenitores en las combinaciones híbridas, además del efecto de las condiciones climáticas y edáficas presentadas en las diferentes etapas fenológicas del cultivo. Lo obtenido en este estudio concuerda con los resultados de Velázquez-Cárdelas *et al.* (2018), quienes al evaluar híbridos comerciales y mestizos de maíz formados con germoplasma del INIFAP y CIMMYT, encontraron diferencias significativas para casi todas las viables en estudio.

### **Contrastes entre metodologías**

Un contraste es una combinación lineal de los efectos de tratamientos; si el número de tratamientos es  $k$  se pueden probar  $k-1$  contrastes ortogonales (Rebolledo, 2002). El Cuadro 2.4 muestra el análisis de varianza del experimento, donde se observa que la diferencia entre los tratamientos (métodos de mejoramiento) resultaron altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ) para las variables de rendimiento de grano (REND), altura de planta (ALPL) y altura de mazorca (ALMZ) y significativa ( $P \leq 0.05$ ) para diámetro de mazorca (DMZ), lo que indica que al menos un método de elección de progenitores difiere del resto en relación a estas variables.

En el Cuadro 2.5 se presenta la lista de los dos contrastes, donde se visualiza que el contraste 1 (molecular vs *per se*, mestizos) resultó significativo ( $P \leq 0.01$  y  $0.05$ ) para rendimiento de grano, diámetro de mazorca, altura de planta y de mazorca.

**Cuadro 2.4. Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza de tres métodos de elección de progenitores en híbridos de cruza simple de maíz, en Díaz Ordaz y Río Bravo, Tamaulipas, México, 2020.**

FV	GL	REND	PDG	NH	DMZ	LMZ	DFM	DFF	ALPL	ALMZ
Tratamientos	2	1.1**	3.6	0.9	0.0*	0.0	1.0	1.1	123.9**	18.4**
Bloques	5	10.0**	8.4*	2.6**	0.2**	2.0**	75.4**	62.1**	1370.2**	636.4**
Error		0.1	2.5	0.1	0.0	0.1	1.3	1.3	16.3	2.2
CV (%)		5.2	1.8	2.2	1.5	3.0	1.4	1.1	2.0	2.2

\*, \*\*: significativo a  $P \leq 0.05$  y  $0.01$ , respectivamente. FV: fuentes de variación, GL: grados de libertad, REND: rendimiento de grano, PDG: porcentaje de desgrane, NH: número de hileras, DMZ: diámetro de mazorca, LMZ; longitud de mazorca, DFM: días a floración masculina, DFF: días a floración femenina, ALPL: altura de planta, ALMZ: altura de mazorca.

**Cuadro 2.5. Contrastes ortogonales de tres métodos de mejoramiento con información molecular, de evaluación de líneas *per se* y prueba de mestizos para la formación de híbridos simples en maíz, en Díaz Ordaz y Río Bravo, Tamaulipas, México, 2020.**

Fuente de variación	G.L	REND	PDG	NH	DMZ	LMZ	DFM	DFF	ALPL	ALMZ
Molecular vs <i>per se</i> y mestizos	1	1.9**	3.7	0.0	0.0**	0.0	0.0	1.4	120.8*	0.4*
<i>Per se</i> vs mestizos	1	0.2	3.5	0.1	0.0	0.0	1.9	0.9	127.1*	36.4**

\*, \*\*: significativo a  $P \leq 0.05$  y  $0.01$ , respectivamente. GL: grados de libertad, REND: rendimiento de grano, PDG: porcentaje de desgrane, NH: número de hileras, DMZ: diámetro de mazorca, LMZ; longitud de mazorca, DFM: días a floración masculina, DFF: días a floración femenina, ALPL: altura de planta, ALMZ: altura de mazorca.

Lo anterior revela que el uso de los marcadores moleculares en un programa de mejoramiento genético puede ser una herramienta útil para predecir eficazmente los progenitores para la generación de híbridos sobresalientes en estas características. Al respecto, Nyaga *et al.* (2020) sugieren que con la selección de las líneas parentales basada en marcadores moleculares a través de sus distancias genéticas es posible desarrollar híbridos sobresalientes para algunos parámetros de rendimiento.

En este sentido, Tomkiwiak *et al.* (2020) señalaron que al involucrar progenitores con mayores distancias genéticas, determinadas a través de marcadores moleculares SSR, mayor será el efecto de heterosis para rendimiento y sus componentes; así mismo, varios autores han señalado que el uso de los métodos tradicionales de mejoramiento genético asistidos con marcadores moleculares da una mejor precisión de predicción en la generación de híbridos (Cossa *et al.*, 2017; Mwangangi *et al.*, 2019, Technow *et al.*, 2014). Por otro lado, Beyene *et al.* (2019) señalan que al introducir los marcadores moleculares en la selección fenotípica convencional es más prometedor para acelerar el desarrollo y la liberación de nuevos genotipos a un costo menor, tiempo y esfuerzo.

El segundo contraste (*per se* vs. mestizos) reveló significancia ( $P \leq 0.01$ ) en altura de mazorca y ( $P \leq 0.05$ ) en altura de planta, sin diferencia en las demás variables de estudio. Esto demuestra que en los materiales de este estudio el utilizar la selección *per se* de las líneas o el uso de mestizo no difieren en relación con los caracteres de rendimiento; sin embargo, sí lo hace en las variables agronómicas.

## 2.6 Conclusiones

El uso de las estrategias estudiadas para selección de líneas parentales generó diferentes resultados en la formación de híbridos de cruza simple de maíz, en diferente magnitud de acuerdo con la variable de interés a mejorar. Se identificó un híbrido con rendimiento superior

con base en distancia genética entre sus líneas parentales derivada con información molecular, que fue competente con los testigos comerciales de la región. Los marcadores moleculares de tipo microsatélite mostraron eficiencia en la predicción del desempeño de híbridos de cruza simple de maíz en comparación de los métodos genotécnicos tradicionales *per se* y mestizos. Los SSRs sirven como herramienta auxiliar dentro de los programas de mejoramiento genético en plantas para la predicción y generación de nuevos híbridos simples, con la ventaja de ahorros en tiempo y recursos al no involucrar pruebas de aptitud combinatoria de sus progenitores.

## 2.7 Literatura citada

- Acevedo-Cortés M. A., A. Castillo-Gutiérrez, M. Andrade-Rodríguez, M. E. Núñez-Valdez, F. Perdomo-Roldan y R. Suárez-Rodríguez (2020)** Aptitud combinatoria y potencial agronómico de líneas de maíz con diferente nivel de endogamia. *Acta Agrícola y Pecuaria* 6:1-12, <https://doi.org/10.30973/aap/2020.6.0061023>
- Azofeita-Delgado A. A. (2006)** Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía Mesoamericana* 17:221-242, <https://doi.org/10.15517/AM.V1712.5163>
- Beyene Y., M. Gowda, M. Olsen, K. R. Robbins, P. Pérez-Rodríguez, G. Alvarado, ... and J. Crossa (2019)** Empirical comparison of tropical maize hybrids selected through genomic and phenotypic selections. *Frontiers in Plant Science* 10:1502, <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01502>
- Buenrostro-Robles M., R. Lobato-Ortiz, J. J. García-Zavala y C. Sánchez-Abarca (2017)** Rendimiento de líneas de maíz exótico irradiado con rayos gamma y de híbridos de cruza simple. *Revista Fitotecnia Mexicana* 40:351-358, <https://doi.org/10.35196/rfm.2017.3.351-358>
- Cervantes-Adame Y. F., H. Rebolloza-Hernández, E. Broa-Rojas, A. Olvera-Velona y G. Bahena-Delgado (2020)** Efecto de heterosis en poblaciones nativas de maíz y sus cruza F1. *Biotecnia* 3:11-19, <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v22i3.992>
- Crossa J., P. Pérez-Rodríguez, J. Cuevas, O. Montesinos-López, D. Jarquín, G. De Los Campos, ... and R. K. Varshney (2017)** Genomic selection in plant breeding: methods, models, and perspectives. *Trends in Plant Science* 22:961-975, <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.08.011>
- Ferdoush A., M. A. Haque, M. M. Rashid and M. A. A. Bari (2017)** Variability and traits association in maize (*Zea mays* L.) for yield and yield associated characters. *In Journal*



- Guillén-de la Cruz P., E. De la Cruz-Lázaro, G. Castañón-Nájera, R. Osorio-Osorio, N. P. Brito-Manzano, A. Lozano R. y U. López-Noverola (2009)** Aptitud combinatoria general y específica de germoplasma tropical de maíz. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 10:101-107.
- Larièpe A., L. Moreau, J. Laborde, C. Bauland, S. Mezmouk, L. Décousset, ... and A. Charcosset (2017)** General and specific combining abilities in a maize (*Zea mays* L.) test-cross hybrid panel: Relative importance of population structure and genetic divergence between parents. *Theoretical and Applied Genetics* 130:403-417, <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2822-z>
- Marcón F., E. J. Martínez, G. R. Rodríguez, A. L. Zilli, E. A. Brugnoli and C. A. Acuña (2019)** Genetic distance and the relationship with heterosis and reproductive behavior in tetraploid bahiagrass hybrids. *Molecular Breeding* 39:89, <https://doi.org/10.1007/s11032-019-0994-3>
- Mwangangi I. M., J. K. Muli and J.O. Neondo (2019)** Plant hybridization as an alternative technique in plant breeding improvement. *Asian Journal of Research in Crop Science* 4:1-11, <https://doi.org/10.9734/AJRCS/2019/v4i130059>
- Nyaga C, M. Gowda, Y. Beyene, W. T. Murithi, J. Burgueno, F. Toledo, ... and B. M. Prasanna (2020)** Hybrid breeding for MLN resistance: heterosis, combining ability, and hybrid prediction. *Plants* 9:468, <https://doi.org/10.3390/plants9040468>
- Ramírez-Díaz J. L., V. A. Vidal-Martínez, I. Alemán-de-la-Torre, A. Ledesma-Miramontes, N. O. Gómez-Montiel, Y. Salinas-Moreno, ... y A. Ruiz-Corral (2019)** Selección de líneas y cruzas de maíz combinando las pruebas de mestizos y cruzas dialélicas. *Revista Fitotecnia Mexicana* 42:335-346, <https://doi.org/10.35196/rfm.2019.4.335-346>
- Rebolledo R. H. H. (2002)** Manual SAS por Computadora: Análisis Estadístico de Datos Experimentales. Trillas. México, D. F. 208 p.
- Reyes M. C. A., M. A. Cantú A., M. De la Garza C., G. Vázquez C. y H. Córdova O. (2009)** H-443A, Híbrido de maíz de grano amarillo para el noreste de México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32:331-333, <https://doi.org/10.35196/rfm.2009.4.331>
- Rodríguez Pérez, G., J. Treviño Ramírez, M. Ojeda Zacarías, F. Cervantes Ortiz, M. A. Ávila Perches, & A. Gámez Vázquez (2020)** Parámetros genéticos y aptitud combinatoria de líneas de maíz para grano. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 11: 1867-1878, <https://doi.org/https://doi.org/10.29312/remexca.v11i8.2085>
- Sánchez-Ramírez F. J, M. C. Mendoza-Castillo y C. G. Mendoza-Mendoza (2020)** Evaluación de mestizos y uso de técnicas multivariadas para identificar líneas sobresalientes de maíz. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 11: 433-439, <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i2.1778>
- SAS Institute Inc. (2011)** SAS/STAT® 9.3 User's Guide. SAS Institute Inc. Cary, North Carolina, USA. 8640 p.

- Singh G., R. Kumar and Jasmine (2017)** Genetic parameters and character association study for yield traits in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 5:808-813.
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2020)** Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Ciudad de México. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (Enero 2021).
- Technow F, T. A. Schrag, W. Schipprack, E. Bauer, H. Simianer and A. E. Melchinger (2014)** Genome properties and prospects of genomic prediction of hybrid performance in a breeding program of maize. *Genetics* 197:1343-1355, <https://doi.org/10.1534/genetics.114.165860>
- Tomkowiak A., J. Bocianowski, M. Kwiatek and P. L. Kowalczewski (2020)** Dependence of the heterosis effect on genetic distance, determined using various molecular markers. *Open Life Sciences* 15:1-11, <https://doi.org/10.1515/biol-2020-0001>
- Velázquez-Cárdelas, G. A., A. González-Huerta, D. J. Pérez-López y F. Castillo-González (2018)** Comportamiento de mestizos de maíz en tres localidades del centro de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícola* 9:1217-1230, <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i6.1586>
- Vélez-Torres M., J. J. García-Zavala, R. Lobato-Ortiz, I. Benítez-Riquelme, J. J. López-Reynoso, J. A. Mejía-Contreras y G. Esquivel-Esquivel (2018)** Estabilidad del rendimiento de cruas dialélicas entre líneas de maíz de alta y baja aptitud combinatoria general. *Revista Fitotecnia Mexicana* 41:167-175, <https://doi.org/10.35196/rfm.2018.2.167-175>

## DISCUSIÓN GENERAL

Las líneas de maíz en estudio derivan de germoplasma con adaptación entre los 100 y 1800 msnm en la zona noreste de México. Se identificaron seis grupos bien definidos de acuerdo con su perfil genético, que corresponden en gran medida con las procedencias genealógicas de las líneas; así mismo, en sus combinaciones híbridas se detectaron diferencias estadísticas significativas entre los genotipos, localidades e interacción genotipo por ambiente en la mayoría de las variables analizadas, lo que indica la existencia de una gran diversidad genética entre los pares de líneas involucradas;. tales diferencias se atribuye a que 27 líneas ( $S_3$  y  $S_5$ ) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) se derivaron de la cruce de la Faja Maicera de los Estados Unidos  $B73 \times Mo17$  y 10 líneas ( $S_4$ ) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAN) que se originaron de un compuesto balanceado entre dos variedades sintéticas de la UAAAN y cuatro líneas proporcionadas por el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). Al respecto Liu *et al.*, (2020) mencionan que la cruce entre  $B73 \times Mo17$  es una combinación clásica en los estudios de heterosis en los Estados Unidos; así mismo, Mikel y Dudley (2006) mostraron que la mayoría del germoplasma que forman los híbridos en EE.UU. se basa en sólo siete líneas puras:  $B73$ ,  $Mo17$ ,  $LH82$ ,  $LH123$ ,  $PH207$ ,  $PH895$  y  $PHG39$ , como se puede apreciar, dos son líneas de instituciones públicas,  $B73$  de la Universidad Estatal de Iowa y  $Mo17$  de la Universidad de Minnesota, y las otras cinco son de empresas privadas. Además, el mapa genético del maíz se basa en líneas endocriadas recombinantes desarrolladas a partir del híbrido  $B73 \times Mo17$  (Swanson-Wagner *et al.*, 2006). Por su parte, en México, instituciones como CIMMYT e INIFAP en sus programas de mejoramiento genético de maíz han utilizado a  $B73$  y  $Mo17$  como grupos heteróticos para la derivación de líneas (Ramírez *et al.*, 2013). Con relación al compuesto balanceado de donde se derivaron las líneas provenientes de la UAAAN, se trató de germoplasma tropical de grano color amarillo. Al respecto Ron-Parra y

Hallauer, (1997) señalaron que al utilizar materiales tropicales se presenta buena combinación con genotipos templados del grupo Stiff Stalk Synthetic, de donde proviene B73, en comparación con otras fuentes de clima templado. En este sentido, se comprende que los resultados expuestos en este estudio se deban principalmente a la incorporación de germoplasma de diferente zona geográfica y por consecuencia se expresan influencias heteróticas en las variables de estudio. En esta perspectiva Reif *et al.*, (2003) hacen referencia que una mayor heterosis en rendimiento de grano en maíz tropical se puede lograr con la incorporación de germoplasma exótico con el propósito de aumentar la distancia genética entre las fuentes de grupos heteróticos opuestos.

Falconer (1970) menciona que es necesario involucrar divergencia genética en las poblaciones para tener una mayor expresión de heterosis en los caracteres y ésta se calcula como  $HF_1 = \sum dy^2$ ; donde:  $HF_1$  es la heterosis exhibida en la  $F_1$ , “d” es el grado de dominancia y “y” es la diferencia en la frecuencia génica de los padres de la cruce (divergencia genética). En este contexto se argumenta que los híbridos con rendimientos superiores a  $7.9 \text{ t ha}^{-1}$  en el presente estudio son aquellos formados con pares de líneas contrastantes y, por lo tanto, con mayor distancia genética. Al respecto, Hallauer *et al.* (2010) mencionan que la heterosis expresada en los híbridos también depende de una amplia base genética de las líneas progenitoras de las cuales se originaron las cruces.

En la actualidad los programas de mejoramiento genético utilizan distintos métodos genotécnicos para la selección y evaluación de los progenitores, entre las más comunes se encuentran la de evaluación de líneas *per se* y de aptitud combinatoria general mediante la prueba de mestizos. Estas técnicas juegan un papel importante dentro de un programa de desarrollo de híbridos, al proporcionar información para identificar y seleccionar materiales que posiblemente producirán prole que presente altos niveles de heterosis en el rendimiento y sus componentes (Vélez-Torres *et al.*, 2018); sin embargo, esto conlleva alto

costo, tiempo y esfuerzo de los fitomejoradores en la evaluación y selección de las líneas. Aunque en el presente estudio no se observaron diferencias significativas en las técnicas tradicionales para la generación de híbridos competentes en rendimiento, ambos métodos son importantes en un programa de hibridación y pueden ser complementarios con las técnicas moleculares para predecir las mejores combinaciones híbridas. Por lo anterior, se considera que las líneas se pueden seleccionar por su rendimiento *per se* puesto que frecuentemente está positivamente correlacionado con su aptitud combinatoria (Buenrostro-Robles *et al.*, 2017); así mismo, la prueba a través de mestizos está estrechamente relacionada con la aptitud combinatoria general de las líneas, lo que permite estimar los efectos genéticos aditivos (Sánchez-Ramírez *et al.*, 2020). En esta perspectiva las líneas encontradas con buena ACG pueden ser utilizadas para la generación de variedades sintéticas, así también, aquel conjunto de líneas con altos valores de ACE pueden ser aprovechadas por su tipo de acción génica no aditiva para la expresión de una mayor heterosis en la formación de híbridos de cruce simple.

Una alternativa y práctica para acelerar el proceso de liberación de genotipos a nivel comercial es el uso de los marcadores moleculares, ya que la selección puede hacerse en diferentes etapas fenológicas de las plantas, lo que permite acortar los tiempos para generar una nueva variedad comercial con respecto al mejoramiento convencional; al acortar los plazos de selección y liberación de variedades se logrará un ahorro sustancial de recursos económicos y humanos (Valadez y Kahl, 2000). Si bien es cierto en el análisis de regresión lineal entre las distancias genéticas de las líneas progenitoras con el rendimiento y sus componentes mostró un poder de bajo a moderado, también, los contrastes ortogonales revelaron significancia estadística en rendimiento, diámetro de mazorca, altura de planta y de mazorca en comparación con los métodos tradicionales; por lo demás, es factible adoptar el uso de los microsatélite como marcadores útiles en los programas de mejoramiento genético para predecir eficazmente a los progenitores en la generación de híbridos o por lo menos

reducir el volumen de materiales involucrados en las evaluaciones de líneas de campo, con el objetivo de minimizar tiempo y recursos económicos. Estudios recientes concuerdan con lo obtenido en este estudio en el sentido que al utilizar marcadores moleculares de tipo microsatélite para la estimación de divergencia genética de las líneas se obtendrán resultados con mayor expresión de heterosis en rendimiento y sus componentes al involucrar pares de líneas con mayores distancias genéticas (Bocianowski *et al.*, 2021; 2020; Ghos *et al.*, 2018; Nyaga *et al.*, 2020; Marcón *et al.*, 2019).

Desde la década de los 1980s se han desarrollado numerosas técnicas de marcadores moleculares enfocadas en múltiples aplicaciones y cada vez más se abre la posibilidad de llevar estudios de diversidad genética hacia nuevos niveles de precisión con estos avances biotecnológicos. Si bien los SSRs han sido durante muchos años los marcadores preferidos para múltiples objetivos como genética forense, pruebas de paternidad, análisis poblacionales, estudios de diversidad e identificación varietal, construcción de mapas genéticos y estudios de asociación (Balloux y Lugon - Moulin, 2002), éstos se han utilizado con mayor frecuencia en estudios de caracterización de diversidad genética y de estructura poblacional en especies de plantas cultivadas, por sus múltiples ventajas como confiabilidad, reproducibilidad y automatización (Bedoya *et al.*, 2010). Actualmente, los SNPs (Single nucleotide polymorphism) están remplazando a los marcadores de tipo SSR en estudios masivos, dado que pueden ser automatizados vía plataformas de genotipado de alto rendimiento; sin embargo, los microsatélites siguen siendo marcadores muy empleados, especialmente en estudios con un menor número de individuos (Ellegren, 2004). Los avances en tecnologías de última generación han impulsado la utilización de la secuenciación del ADN hasta el punto de que el genotipo por secuenciación (GBS por sus siglas en inglés) es ahora aplicado para estudios de diversidad, constituyendo un método técnicamente simple, adecuado para los estudios de caracterización de germoplasma, mejoramiento y el mapeo de caracteres en

diversos organismos (Elshire *et. al.*, 2011), aunque con requerimientos de equipo mucho más exigentes en cuanto a costo. Dentro de este marco, la selección más apropiada de los marcadores moleculares depende del objetivo del trabajo, para lo cual se debe considerar el costo en sí de la técnica, además de personal capacitado e instalaciones adecuadas de laboratorio con las que se cuenta.

Es importante resaltar que el análisis para predecir combinaciones en pares de líneas de maíz como progenitores de híbridos en la zona norte de Tamaulipas empleando marcadores de tipo microsatélite es novedoso, ya que no hay trabajos documentados que hayan realizado estudios sobre el uso de los SSRs como herramienta complementaria en los programas clásicos de mejoramiento genético en CERIB-INIFAP. Por último, se debe de dejar en claro que los marcadores moleculares no vienen a suplir a los métodos genotécnicos tradicionales, más bien, se puntualiza que los marcadores moleculares pueden ser una herramienta auxiliar eficaz en los programas de mejoramiento por hibridación tradicional con la finalidad de detectar combinaciones con relación a su divergencia genética.

#### Literatura citada

- Balloux F. and N. Lugon-Moulin (2002)** The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology* 11:155-165, <https://doi.org/10.1046/j.0962-1083.2001.01436.x>
- Bedoya S. C., C. Mir, A. Charcosset y M. Warburton (2010)** Migración del maíz a partir de su centro de origen, evidencias históricas, genéticas y paleobotánicas. *In: El Cultivo del Maíz. Temas Selectos. Vol. 2. C. De León y R. Rodríguez M (coords.). Mundi Prensa. México, D.F. p. 15-34.*
- Bocianowski J., K. Nowosad, B. Wróbel and P. Szulc (2021)** Identification of associations between SSR markers and quantitative traits of maize (*Zea mays* L.). *Agronomy* 11:182, <https://doi.org/10.3390/agronomy11010182>
- Buenrostro-Robles M., R. Lobato-Ortiz, J. J. García-Zavala y C. Sánchez-Abarca (2017)** Rendimiento de líneas de maíz exótico irradiado con rayos gamma y de híbridos de cruza simple. *Revista Fitotecnia Mexicana* 40:351-358, <https://doi.org/10.35196/rfm.2017.3.351-358>

- Ellegren H. (2004)** Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics* 5:435-445, <https://doi.org/10.1038/nrg1348>
- Elshire R. J., J. C. Glaubitz, Q. Sun, J. A. Poland, K. Kawamoto, E. S. Buckler and S. E. Mitchell (2011)** A robust, simple Genotyping-by-Sequencing (GBS) approach for high diversity species. *Plos One* 6:1-10, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019379>
- Falconer D. S. (1970)** Introducción a la Genética Cuantitativa. Trad. F. Márquez S. Ed. CECSA. México, D. F. 430 p.
- Ghosh A., P. K. Das, A. Ghosh and S. Kundagrami (2018)** Heterosis, potence ratio and genetic distance for yield and yield contributing traits in single cross maize hybrids. *Maydica* 63:1-9.
- Hallauer A. R., M. J. Carena and J. B. M. Filho (2010)** Quantitative Genetics in Maize Breeding. Springer-Verlag. New York, USA. 664 p.
- Liu H., Q. Wang, M. Chen, Y. Ding, X. Yang, J. Liu, ...and X. Huang (2020)** Genome-wide identification and analysis of heterotic loci in three maize hybrids. *Plant Biotechnology Journal*. 18:185-194, <https://doi.org/10.1111/pbi.13186>
- Marcón F., E. J. Martínez, G. R. Rodríguez, A. L. Zilli, E. A. Brugnoli and C. A. Acuña (2019)** Genetic distance and the relationship with heterosis and reproductive behavior in tetraploid bahiagrass hybrids. *Molecular Breeding* 39:89, <https://doi.org/10.1007/s11032-019-0994-3>
- Mikel M. A. and J.W. Dudley (2006)** Evolution of North American dent corn from public to proprietary germplasm. *Crop Science* 46:1193-1205, <https://doi.org/10.2135/cropsci2005.10-0371>
- Nyaga C, M. Gowda, Y. Beyene, W. T. Murithi, J. Burgueno, F. Toledo, ... and B. M. Prasanna (2020)** Hybrid breeding for MLN resistance: heterosis, combining ability, and hybrid prediction. *Plants* 9:468, <https://doi.org/10.3390/plants9040468>
- Ramírez D. J. L.; V. A. V. Martínez, A. L. Miramontes, M. C. Bonaparte, A. P. Ramos, J. A. R. Corral y J. R. Parra (2013)** Propuesta para integrar un patrón heterótico de maíz de grano amarillo para la zona de Transición de México. I. Método y formación de poblaciones. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36:189-199, <https://doi.org/10.35196/rfm.2013.3.189>
- Ron-Parra, J. and Hallauer, A. R. (1997)** Utilization of exotic maize germplasm. *Plant Breeding Reviews* 14:165-187, <https://doi.org/10.1002/9780470650073.ch6>
- Reif, J. C., A. E. Melchinger, X. C. Xia, M. L. Warburton, D. A. Hoisington, S. K. Vasal, ... and M. Frisch (2003)** Genetic distance based on simple sequence repeats and heterosis in tropical maize populations. *Crop Science* 43:1275-1282, <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.1275>
- Sánchez-Ramírez F. J, M. C. Mendoza-Castillo y C. G. Mendoza-Mendoza (2020)** Evaluación de mestizos y uso de técnicas multivariadas para identificar líneas



sobresalientes de maíz. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 11:433-439, <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i2.1778>

**Swanson-Wagner, R.A., Y. Jia, R. DeCook, L. A. Bursa, D. Nettleton and P. S. Schnable (2006)** All possible modes of gene action are observed in a global comparison of gene expression in a maize F<sub>1</sub> hybrid and its inbred parents. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 103:6805-6810, <https://doi.org/10.1073/pnas.0510430103>

**Valdez E. y G. Kahl (2000)** Huellas de ADN en Genomas de Plantas: Teoría y Protocolos de Laboratorio. Ed. Mundi Prensa. México, D.F. 147 p.

**Vélez-Torres M., J. J. García-Zavala, R. Lobato-Ortiz, I. Benítez-Riquelme, J. J. López-Reynoso, J. A. Mejía-Contreras y G. Esquivel-Esquivel (2018)** Estabilidad del rendimiento de cruas dialélicas entre líneas de maíz de alta y baja aptitud combinatoria general. *Revista Fitotecnia Mexicana* 41:167-175, <https://doi.org/10.35196/rfm.2018.2.167-175>

## CONCLUSIONES GENERALES

En este trabajo se determinó que la efectividad en la predicción de híbridos maíz en relación con la divergencia genética de sus líneas parentales depende de la variable de interés.

Las variables asociadas a los componentes de rendimiento revelaron diferencias estadísticas y relación baja entre sus distancias genéticas, sin embargo, los caracteres altura de planta y altura de mazorca, demostraron asociación moderada.

Con los microsatélites se detectó un poder moderado en la predicción del desempeño de híbridos en maíz, con la ventaja de ahorros en tiempo y recursos al no involucrar pruebas de aptitud combinatoria.

El uso de marcadores moleculares y los métodos tradicionales en un programa de hibridación revelan diferentes resultados en la generación de nuevos híbridos.

Se identificó un híbrido superior en rendimiento y sus componentes al combinar pares de líneas con mayores distancias genéticas. El híbrido, derivado con información molecular, fue competente con los testigos comerciales de la región.

Los marcadores moleculares de tipo microsatélite mostraron una mayor eficiencia en la predicción del desempeño de híbridos de cruce simple de maíz en comparación con los métodos tradicionales *per se* y mestizos.

El uso de los microsatélites puede ser una herramienta factible de implementar dentro de los programas de mejoramiento genético tradicionales para la generación de nuevos híbridos, con la finalidad de minimizar recursos económicos, esfuerzo y tiempo al no involucrar pruebas de aptitud combinatoria de sus progenitores.