



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GENÉTICA

**PREDICCIÓN DEL RENDIMIENTO Y
COMPORTAMIENTO AGRONÓMICO DE CRUZAS
SIMPLES DE MAÍZ CON AUXILIO DE
MARCADORES MOLECULARES**

CÉSAR ZAVALA PLIEGO

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

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

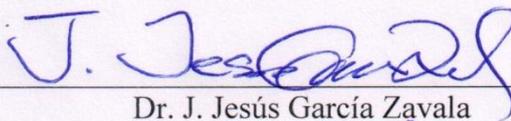
2014

La presente tesis titulada: **“PREDICCIÓN DEL RENDIMIENTO Y COMPORTAMIENTO AGRONÓMICO DE CRUZAS SIMPLES DE MAÍZ CON AUXILIO DE MARCADORES MOLECULARES”** realizada por el alumno: **CÉSAR ZAVALA PLIEGO** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

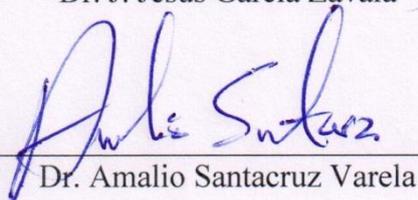
**MAESTRO EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GENÉTICA**

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO


Dr. J. Jesús García Zavala

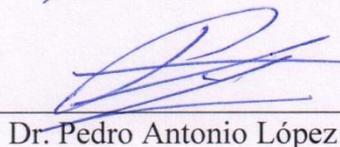
**DIRECTOR DE
TESIS**


Dr. Amalio Santacruz Varela

ASESOR


Dr. José D. Molina Galán

ASESOR


Dr. Pedro Antonio López

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Noviembre de 2014

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico brindado para la realización de mis estudios de Postgrado en esta institución.

Al Colegio de Postgraduados por cobijarme durante el periodo de estudios para obtener el grado de Maestro en Ciencias en el Posgrado de Recursos Genéticos y Productividad- Genética

A los miembros de mi consejo particular:

Dr. J. Jesús García Zavala por el apoyo incondicional para poder culminar este proyecto de tesis, por su amistad y los buenos consejos que recibí y que de alguna manera influyeron para culminar esta etapa.

Dr. Amalio Santacruz Varela por la dirección de este proyecto, por su amistad y apoyo incondicional y por el conocimiento otorgado durante los cursos impartidos.

Dr. Pedro Antonio López por todo el apoyo brindado además de su disponibilidad para ser miembro de este consejo.

Dr. José D. Molina Galán por los buenos consejos y apoyo en la realización de este proyecto de tesis.

A todos los profesores e investigadores del Colegio de Postgraduados que formaron parte en mi formación académica.

Al personal del departamento de Genética en especial a las Sras. Dalila y Norma por él apoyo brindado durante mi estancia.

A todos mis compañeros y amigos que hicieron más amena mi estancia en el postgrado en especial a la MC. Ana Luisa Gómez Espejo por su amistad y apoyo incondicional.

A la empresa ASPROS quienes la dirigen familia Villaverde por darme la oportunidad de poner en práctica los conocimientos adquiridos durante mi formación académica.

Al MC. Gerardo Arancivia Gómez por todo el apoyo, enseñanzas y conocimientos compartidos dentro de la empresa y por darme la oportunidad de realizarme profesionalmente.

DEDICATORIA

*A mis padres quienes son mi motor para salir a delante Venancio Zavala Amacende y
Guadalupe Pliego Ramírez.*

A mis hermanos quienes forman parte de esta historia Néstor y Lizbeth.

A mis abuelos, tíos, primos y demás familia.

A mis compañeros y amigos:

*Ana Luisa, José Luis, Enrique (Kike), Jesús, Javier, Lorena, Sandra, Eddie, Viry, Chío,
Ricardo, Bernabé, Rubén, Ezequiel, etc...*

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
SUMMARY	2
I.- INTRODUCCIÓN GENERAL	3
1.1. Marco de referencia.....	3
1.2. Objetivos	5
1.3. Hipótesis.....	5
II.- REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
2.1. Hibridación y heterosis	6
2.2. Divergencia genética	8
2.3. Marcadores moleculares.....	11
2.4. Bases moleculares de la heterosis	14
III.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
3.1. Fase 1.....	16
3.1.1. Material Parental.....	16
3.1.2. Análisis de las líneas parentales mediante marcadores moleculares	16
3.1.3. Extracción de ADN, amplificación y análisis de fragmentos	17
3.1.4. Divergencia genética entre progenitores y formación de grupos.....	18
3.2. Fase 2.....	18
3.2.1. Formación de híbridos simples	18
3.2.2. Evaluación de híbridos y líneas progenitoras	19
3.2.3. Diseño y unidad experimental	19
3.2.4. Variables evaluadas	19
3.2.5 Análisis estadístico	20
IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
4.1. Fase 1.....	22
4.1.1. Distancias genéticas y formación de grupos de líneas.....	22
4.2. Fase 2.....	23
4.2.1. Evaluación en campo de híbridos y líneas.....	23
4.2.1.1. Análisis de varianza de híbridos	23
4.2.1.2. Análisis de regresión lineal.....	26
4.2.1.3. Análisis de varianza de líneas	29
4.2.1.4. Análisis de heterosis de híbridos	31

4.2.1.5. Análisis de correlación.....	32
V.- CONCLUSIONES GENERALES	37
VI. LITERATURA CITADA	38

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Líneas endogámicas utilizadas en el estudio.....	16
2. Lista de loci de SSR utilizados para el análisis, localización cromosómica e iniciadores utilizados para la amplificación.	17
3. Cuadrados medios del análisis de varianza combinado de 111 híbridos a través de cinco localidades para la variable RENDIMIENTO y de dos localidades para la variable MPOD.....	24
4. Cuadrados medios del análisis de varianza combinado de 111 híbridos a través de tres localidades para la variable AP y AM.	25
5. Cuadrados medios del análisis de varianza combinado de 111 híbridos a través de dos localidades para variables de componentes de rendimiento.	25
6. Cuadrados medios del análisis de varianza combinado para 11 variables de 38 líneas progenitoras a través de dos ambientes.....	30
7. Cuadrados medios del análisis de varianza combinado de los valores de heterosis con respecto al progenitor medio para nueve variables de 101 cruzas simples evaluadas en dos localidades Primavera-Verano 2012.	31
8. Correlación de la heterosis de rendimiento y sus componentes vs distancia genética.....	33

LISTA DE CUADROS DEL ANEXO

Cuadro	Página
1A. Distancias genéticas modificadas de Rogers entre las líneas de este estudio. ..45	
2A. Cruzas entre las líneas más y menos divergentes y su distancia genética.....48	
3A. Comparación de medias de híbridos con la prueba de Tukey (0.05) para rendimiento y heterosis.49	

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Agrupamiento de 42 líneas homocigóticas en tres grupos de similitud de acuerdo con sus distancias genéticas.....	23
2. Distancias genéticas (DG) vs. A) Rendimiento (REND, t ha ⁻¹), B) Altura de Planta (AP, cm), C) Altura de Mazorca (AM, cm) y D) Mazorcas podridas (MPOD, %).	27
3. Distancias genéticas (DG) vs. A) Longitud de Mazorca (LM, cm), B) Diámetro de Mazorca (DM, cm), C) Granos por hilera (GxH, n), D) Peso de 100 granos (P100G, g) y E) Volumen de 100 granos (V100G, mL).	29
4. Distancias genéticas vs. Heterosis: A) Rendimiento, B) Longitud de mazorca, C) Diámetro de mazorca y D) Granos por hilera. Significancia ($P \leq 0.01$).	35
5. Distancias genéticas vs. Heterosis: E) Diámetro de olote, F) Peso de olote, G) Peso de 100 granos y H) Volumen de 100 granos. Significancia ($P \leq 0.01$). ...	36

PREDICCIÓN DEL RENDIMIENTO Y COMPORTAMIENTO AGRONÓMICO DE CRUZAS SIMPLES DE MAÍZ CON AUXILIO DE MARCADORES MOLECULARES

César Zavala Pliego, M.C.
Colegio De Postgraduados, 2014

El mejoramiento genético mediante hibridación involucra la formación y evaluación de un alto número de cruzamientos para determinar las mejores combinaciones entre progenitores; esto implica la necesidad de invertir muchos recursos, tiempo y esfuerzo, por lo que es altamente deseable introducir nuevas estrategias para predecir el desempeño de las progenies. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la efectividad de las distancias genéticas entre 42 líneas endogámicas de maíz (*Zea mays* L.), estimadas a partir de marcadores moleculares de secuencias simples repetidas (SSR) como predictores del desempeño agronómico de híbridos. Durante el ciclo Otoño-Invierno de 2011, se formaron 107 híbridos simples con líneas de alta y baja divergencia, de acuerdo con las distancias genéticas modificadas de Rogers, determinadas con 26 loci de SSR; dichos materiales se establecieron en cinco localidades del Bajío durante el ciclo Primavera-Verano 2012, junto con cuatro testigos comerciales, utilizando un diseño de bloques completos al azar con dos repeticiones por localidad. Se evaluaron las variables agronómicas de altura de planta (AP), altura de mazorca (AM) y porcentaje de mazorcas podridas (%MPOD), rendimiento de grano y sus componentes: longitud de mazorca (LM), diámetro de mazorca (DM), número de granos por hilera (GxH), peso de 100 granos (P100G), volumen de 100 granos (V100G), peso de olote (PO) y diámetro de olote (DO); también se estimó la heterosis con respecto al progenitor medio. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza combinado a través de localidades. Las distancias genéticas observadas entre pares de líneas fluctuaron desde 0.339 hasta 0.965; el dendrograma generado con las distancias genéticas modificadas de Rogers organizó las líneas en tres grupos a una distancia genética aproximada de 0.850. Se efectuó un análisis de regresión de los valores de las variables evaluadas en campo sobre las distancias genéticas, resultando los coeficientes de regresión estadísticamente significativos. Los coeficientes de determinación más altos obtenidos en este análisis fueron para las variables altura de planta y de mazorca, rendimiento, longitud de mazorca y granos por hilera con 53, 45, 46, 21 y 27 %, respectivamente. Las cruzas con mayor rendimiento fueron aquellas cuya distancia genética fue de 0.838, 0.877, 0.872, 0.966 y 0.930 con 16.8, 16.4, 16.3, 16.2 y 16.0 t ha⁻¹, respectivamente. Lo anterior indica que a medida que incrementa la divergencia genética entre los progenitores también ocurre un mayor rendimiento de sus cruzas. Al analizar la heterosis de híbridos con la distancia genética, se observaron correlaciones positivas y significativas (0.01 y 0.05) en la mayoría de las variables; sin embargo el porcentaje de explicación (R²) fue bajo (15 al 21%), por lo que se infiere que la capacidad para predecir los niveles de heterosis usando la distancia genética entre los padres varía para las diferentes variables.

Palabras clave: *Zea mays* L., distancia genética, divergencia, heterosis, SSR.

PREDICTION OF YIELD AND AGRONOMIC PERFORMANCE OF SINGLE CROSSES OF MAIZE WITH THE ASSISTANCE OF MOLECULAR MARKERS

César Zavala Pliego, M.S.
Colegio de Postgraduados, 2014°

Plant breeding by hybridization involves the formation and evaluation of a large number of crosses in order to determine the best combinations between parents; this implies the need to invest a lot of resources, time and effort; so, it is highly desirable to introduce new strategies to predict the agronomic performance of the progenies. This study aimed to evaluate the effectiveness of the genetic distances of 42 inbred lines of maize (*Zea mays* L.), estimated from molecular markers of simple sequence repeats (SSR) as predictors of the agronomic performance of hybrids. During the cycle Autumn-Winter of 2011, 107 simple hybrids were formed with lines of high and low divergence, according to the Rogers' modified genetic distances, determined with 26 SSR loci; these materials were established at five locations of the Bajío, México, during the 2012 Spring-Summer cycle, along with four commercial checks, by using a randomized complete blocks design with two replications per location. Agronomic traits such as plant height (AP), ear height (AM), percentage of rotten ears (MPOD%), grain yield and its components: length (LM) and diameter (DM) of ear, number of kernels per row (GxH), weight of 100 kernels (P100G), volume of 100 kernels (V100G), cob weight (PO) and cob diameter (OD) were evaluated; heterosis relative to the mid parent was also estimated. Data obtained were subjected to a combined analysis of variance across locations. The observed genetic distances between pairs of lines ranged from 0.339 to 0.965; the dendrogram generated with the modified Rogers' genetic distances organized the lines into three groups at a genetic distance of approximately 0.850. A regression analysis of the values of the traits over the genetic distances was performed, and the regression coefficients resulted statistically significant. The highest coefficients of determination obtained in this analysis were those for plant and ear height, yield, ear length and kernels per row, with 53, 45, 46, 21 and 27%, respectively. Crosses with the highest yield were those whose genetic distance was 0.838, 0.877, 0.872, 0.966 and 0.930 with 16.8, 16.4, 16.3, 16.2 and 16.0 t ha⁻¹, respectively. As genetic divergence between parents increases, a higher yield from their crosses occurs. When heterosis was analyzed with genetic distances, significant correlations (0.01 and 0.05) were observed in most of the traits; however the explanation percentages (R²) were low (15 to 21%), so it indicates that the ability to predict the levels of heterosis using genetic distance between parents varies for the different traits.

Keywords: *Zea mays* L., genetic distance, divergence, heterosis, SSR.

I.- INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1. Marco de referencia

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 a bajo costo, satisfaciendo de esta manera las necesidades de la sociedad. Un sistema importante para la obtención de cultivares sobresalientes ha sido la hibridación, la cual es considerada como un método genotécnico que tiene por objeto aprovechar la generación F_1 proveniente de la cruce entre dos poblaciones, las cuales pueden ser líneas endogámicas, variedades de polinización libre, sintéticas, o poblaciones F_1 en el caso de cruces dobles (Márquez, 1988).

En especies alógamas como el maíz (*Zea mays* L.) se presenta el fenómeno de heterosis, en el cual la progenie de líneas endogámicas presenta superioridad en diversos caracteres como biomasa, velocidad de desarrollo, fertilidad y productividad en relación con sus padres o al mejor padre (Birchler *et al.*, 2003; Ramírez *et al.*, 2007; Esquivel *et al.*, 2011); sin embargo, en numerosos estudios, se ha señalado que para la obtención de híbridos sobresalientes es importante considerar la divergencia genética de los progenitores, ya que de ello depende en gran medida la expresión de heterosis que muestren los híbridos originados de las cruces; por ello, el conocimiento de la diversidad genética de las líneas parentales y su correcta asignación en grupos heteróticos es fundamental en la formación de cruces que exhiban las máximas expresiones de heterosis o vigor híbrido (Srdić *et al.*, 2007; González *et al.*, 2009).

El desarrollo y la selección de líneas puras en programas clásicos de mejoramiento genético, así como la evaluación del desempeño de los híbridos es costoso y consume mucho tiempo y esfuerzo. Actualmente, los marcadores moleculares, en especial los llamados microsatélites o SSRs (secuencias simples repetidas), tanto en plantas como en animales, han demostrado ser una herramienta de gran valor en los programas de mejoramiento genético, debido a su elevado nivel de polimorfismo y a la posibilidad de poder trabajar con reducidas cantidades de ADN, ya que su estudio se realiza en etapas juveniles de la planta, con lo cual se logra reducir en gran medida el tiempo para su identificación genética; también son útiles en la determinación de distancias genéticas entre las líneas parentales para programar con mayor eficiencia los cruzamientos entre éstas, pudiendo así predecir las de mayor rendimiento y las más heteróticas (Cho *et al.*, 2004).

En maíz, los resultados para lograr la predicción de la heterosis en híbridos mediante la asociación entre la divergencia genética de los progenitores, han sido poco claros y en ocasiones contradictorios, debido a que las bases moleculares del fenómeno siguen siendo difíciles de explicar (Chen, 2013); así, Smith *et al.* (1990) encontraron una alta correlación entre la distancia genética derivada de marcadores RFLP y el rendimiento de grano de cruas simples de maíz, mientras que Dudley *et al.* (1991) no encontraron correlación significativa entre rendimiento de híbridos de maíz y las distancias genéticas entre progenitores determinadas con isoenzimas y RFLPs; y más recientemente Schrag *et al.* (2010) encontraron que el rendimiento de grano en híbridos de maíz fue predicho de manera más eficiente mediante marcadores moleculares RFLPs y SSRs que con otras estrategias, como información de pedigrí, aptitud combinatoria general y comportamiento *per se* de las líneas.

Por lo anterior, y para contribuir en el conocimiento de la utilidad predictiva de las distancias genéticas obtenidas por microsatélites en el comportamiento agronómico de híbridos de cruce simple, se realizó el presente estudio en maíz bajo los objetivos e hipótesis siguientes:

1.2. Objetivos

a) Evaluar la efectividad de las distancias genéticas, estimadas a partir de marcadores moleculares tipo microsatélites, como predictores del rendimiento y sus componentes en híbridos de cruce simple de maíz derivados de un grupo de líneas endogámicas con adaptación a altitudes intermedias.

b) Estimar los efectos de heterosis en híbridos de cruce simple de un grupo de líneas de maíz y su relación con su divergencia genética, estimada a partir de marcadores moleculares de secuencias simples repetidas de ADN.

1.3. Hipótesis

a) Las distancias genéticas estimadas a partir de marcadores moleculares de tipo microsatélite permiten predecir de manera eficiente el desempeño agronómico de híbridos de cruce simple de maíz en términos de rendimiento y sus componentes.

b) A mayor divergencia entre las líneas progenitoras, estimada ésta a partir de distancias genéticas con marcadores de secuencia simple repetida, se presenta una mayor heterosis para rendimiento y sus componentes en sus híbridos de cruce simple.

II.- REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Hibridación y heterosis

Los principios del mejoramiento genético del maíz por hibridación, tal como los entendemos hoy en día, se vinieron desarrollando durante el siglo XX, a partir de las publicaciones de George H. Shull (1908, 1909, 1910) y Edward M. East (1908), quienes estudiaron los trabajos de cruza intervarietales de William J. Beal, el pionero en el desarrollo del maíz híbrido. Cuando el maíz híbrido comercial fue introducido por primera vez, en la década de 1930 en los Estados Unidos, pocas personas se dieron cuenta de su potencial para aumentar la productividad agrícola en el mundo porque no se tenía una idea clara del fenómeno y del vigor híbrido (Crow, 1998; Duyick, 2001).

La heterosis fue observada por primera vez en 1871 por C. Darwin (Wallace y Brown, 1988), cuyo término fue introducido por primera vez por George H. Shull en 1914, describiendo a la heterosis como "El vigor fisiológico de un organismo que se manifiesta en su rapidez de crecimiento, su altura y robustez en general, y que se correlaciona positivamente con el grado de disimilitud en la gametos por cuya unión se formó el organismo"; así mismo, señaló que aunque todo vigor híbrido es heterosis, no toda heterosis puede ser llamada vigor híbrido (Shull, 1948). Para Chen (2013) la heterosis es un término más amplio que incluye a los híbridos y los heterocigotos somáticos, como en heterosis de un solo locus; sin embargo, estos términos se utilizan a menudo como sinónimos. Es de destacar que en algunos informes, el término heterosis se limita a vigor híbrido en los cultivos o los organismos mestizos en comparación con sus padres consanguíneos, mientras que el vigor híbrido se aplica a las poblaciones naturales.

La importancia de la heterosis es que desde su descubrimiento, este fenómeno biológico ha sido aprovechado en los programas de mejoramiento genético, logrando generar grandes ganancias en la producción agrícola por varias décadas, debido al aumento en el rendimiento que ésta produce (Larièpe *et al.*, 2012).

La explotación de la heterosis es muy importante en la producción de híbridos, de los cuales existen tres tipos en el mercado, aprovechando las ventajas que ofrece este fenómeno en la producción comercial del maíz, éstos son: a) simples: resultado de la cruce entre dos genotipos contrastantes, generalmente líneas autofecundadas; b) dobles: producto del cruzamiento de dos híbridos simples; c) trilineales: obtenidos de la cruce entre un híbrido simple (que actúa como hembra) y una tercera línea (que participa como macho), este último generalmente se utiliza en siembras para la producción de semilla (Chávez, 1993).

Países desarrollados como Estados Unidos de América producen híbridos de cruce simple de maíz debido a que disponen de líneas endogámicas con alto potencial de rendimiento (Escorcia-Gutiérrez *et al.*, 2010); en México este tipo de híbridos comienza a ser utilizado principalmente por empresas privadas, ya que en nuestro país los programas públicos de mejoramiento genético aún no cuentan con líneas autofecundadas de alto rendimiento *per se* para ser usadas como progenitores hembra de híbridos simples (Pérez-López *et al.*, 2014).

Existen dos hipótesis principales que explican el fenómeno de heterosis: la de dominancia y la de sobre-dominancia (Allard, 1999). La teoría de la dominancia menciona que dos genotipos parentales portadores de alelos dominantes al ser cruzados

producen una F_1 más vigorosa que cada parental individualmente por la presencia en la progenie de una mayor frecuencia de alelos dominantes; la teoría de sobre-dominancia asume que la combinación heterocigótica de alelos en un locus dado es superior a cualquier combinación homocigótica de dichos alelos (Xiao *et al.*, 1995), siempre y cuando los loci afectados correspondan a caracteres cuantitativos (Johnson y Hutchinson, 1993).

Sobre la hipótesis de sobre-dominancia, East (1908) y Shull (1908) mencionan que el vigor híbrido se manifiesta en estado heterocigótico; es decir, que la heterosis se manifiesta como producto de la heterocigosis presente en el híbrido, el cual será superior a sus progenitores. Por otra parte, East (1936) propuso la existencia de una serie de alelos con una divergencia de funciones gradualmente mayor, postulando que los heterocigotes serían más eficientes cuanto más diverja la función de sus alelos correspondientes; sin embargo, se cree que son raros los casos de heterosis de un solo gen, por lo cual esto ha sido un impedimento para la aceptación de esta hipótesis, debido a la cantidad de datos que demuestran la importancia de la dominancia parcial y completa para caracteres cuantitativos (Fehr, 1987).

2.2. Divergencia genética

Para Mladenović *et al.* (2012), la heterosis se ha explotado ampliamente en combinaciones híbridas; a pesar de ello, su base genética no es totalmente conocida, por lo que identificar los factores genéticos que contribuyen a su expresión, así como un método adecuado para predecirla se vuelven un objetivo prioritario de todo mejorador de plantas.

Según Ferreira *et al.* (1995), en el cultivo de maíz se sugiere que la magnitud de la heterosis en los híbridos F_1 está relacionada directamente con la divergencia genética entre las líneas parentales, y que la posibilidad de encontrar combinaciones prometedoras aumenta cuando se utilizan materiales más divergentes, sin embargo, las cruas entre padres extremadamente divergentes también puede dar lugar a la ruptura de la función armónica de los alelos (Hallauer *et al.*, 2010; Shieh y Thseng, 2002).

Por otra parte, Cress (1966) considera que la divergencia genética es una condición necesaria para que exista heterosis, pero que ésta no es suficiente para garantizar su máxima expresión, ya que la heterosis depende de las diferencias entre las frecuencias alélicas y del tipo de acción génica en todos los loci involucrados.

Para Oliboni *et al.* (2012), la heterosis que expresan las cruas entre individuos de diferentes poblaciones depende de la presencia de genes con efectos no aditivos y de la divergencia genética entre ellos, la cual está relacionada con el grado de distancia genética entre las poblaciones, por lo tanto, la magnitud de la heterosis es generalmente proporcional a la distancia genética entre los padres.

Aranguren-Méndez *et al.* (2005) definen a las distancias genéticas como estimadoras del tiempo de separación entre poblaciones basadas en ciertas diferencias genéticas existentes dentro y entre poblaciones. Algunas de las distancias genéticas están enfocadas en los cambios de las frecuencias génicas (p.e. F_{ST}); mientras que otras incorporan además el proceso mutacional, y en el caso específico de los microsatélites éstas siguen el modelo de evolución por paso o etapas (stepwise); la expresión F_{ST} representa la F-estadística que Wrigth (1965) definió como la correlación entre dos

gametos tomados al azar de cada una de las subpoblaciones y mide el grado de diferenciación genética entre dos subpoblaciones.

Según Cargnelutti Filho *et al.* (2008), la divergencia genética, evaluada sobre la base de la distancia genética entre los individuos, es una característica de predicción que permite la identificación de cruzas que optimizarán la heterosis, evitando al mismo tiempo características indeseables con una mayor probabilidad de éxito.

Por su parte, Bruel *et al.* (2006) consideran que cuando se utilizan técnicas de predicción mediante la diversidad genética de los progenitores para la programación de sus cruzas dialélicas, se observará una reducción en el número de combinaciones, ya que aquellas cruzas entre progenitores con baja divergencia genética generarían híbridos no muy productivos.

El desarrollo de técnicas de biología molecular permite evaluar la diversidad genética por medio de marcadores moleculares, metodología que representa ciertas ventajas pues además de permitir la identificación de un gran polimorfismo, el cual no muestra interacción con el ambiente, también se puede evaluar en cualquier etapa de desarrollo (Williams *et al.*, 1990). Con el uso de estas técnicas moleculares, varios estudios han informado de una correlación positiva entre la distancia genética de los padres y el vigor híbrido o heterosis (Lee *et al.*, 1989; Smith *et al.*, 1990; Liu *et al.*, 2002; Barbosa *et al.*, 2003, Paterniani *et al.*, 2008).

2.3. Marcadores moleculares

En la actualidad, los marcadores moleculares son una herramienta útil para determinar la diversidad genética, la delimitación de grupos heteróticos y la asignación de líneas dentro de éstos (Melchinger, 1991; Bernardo, 2001; Warburton *et al.*, 2002). Griffiths *et al.* (1993) mencionan que un marcador genético es una variante alélica que se utiliza para marcar una estructura biológica o proceso a lo largo de un experimento genético.

Karp *et al.* (1997) indican que dentro de los marcadores moleculares existen tres categorías básicas: 1) aquellos que no se basan en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), por ejemplo RFLP; 2) técnicas que utilizan iniciadores o “primers” arbitrarios o semiarbitrarios, por ejemplo iniciadores PCR múltiples arbitrarios (MAAP), RAPD y RAMPO; 3) PCR con sitio objetivo específico, por ejemplo SSRs, intersecuencias simples repetidas (ISSRs); las categorías 2 y 3 son marcadores basados en PCR. Por otra parte Cheng y Crittenden (1994) mencionan que un buen marcador molecular debe reunir una serie de características para maximizar su utilidad, entre ellas, debe tener una buena distribución a lo largo del genoma y alto grado de polimorfismo, además la técnica para analizar el marcador debe ser rápida, práctica y repetible en otros laboratorios.

Hoy en día los marcadores más utilizados en plantas por sus características son los microsatélites, los cuales son regiones de secuencias pequeñas (dos a 6 pares de bases) repetidas, arregladas en serie, las cuales se asume que están distribuidas por todo el ADN genómico. Son secuencias de ADN altamente variables, dispersas a través de los genomas de hongos, plantas y animales, los cuales pueden o no estar asociados con

genes; son loci altamente mutables que pueden estar presentes en muchos sitios del genoma. Dado que la repetición por sí misma no codifica para formar ninguna proteína, y debido a que las secuencias de ADN repetitivo pueden recombinarse y expandirse más frecuentemente que otros tipos de secuencias, estas regiones son a menudo altamente variables y consecuentemente útiles para medir el polimorfismo entre especies o variedades muy relacionadas (Phillips-Mora *et al.* 1995; Valadez y Kahl, 2000).

Los tipos de repeticiones que ocurren en los SSR varían entre las especies; las repeticiones más frecuentes en las plantas son (AA)_n y (AT)_n (Lagercrantz *et al.*, 1993); estas repeticiones están concentradas en secciones grandes del ADN que no codifican para genes conocidos, y que se han llamado macrosatélites, por lo que probablemente no son útiles como aquellos marcadores que están distribuidos al azar (Phillips-Mora *et al.* 1995); por el contrario, Tanksley (1993) encontró que las secuencias (GA)_n y (GT)_n y sus complementos (CT)_n y (CA)_n se presentan con más frecuencia y están aleatoriamente espaciadas en el genoma del maíz. En otros estudios Wu y Tanksley (1993) también observaron que estos loci son altamente polimórficos entre variedades de arroz, por lo que son útiles como herramientas de mapeo y para estudios de polimorfismos intra-específicos.

Aranguren-Méndez *et al.* (2005) mencionan que los marcadores de ADN y en especial los microsátélites, están rápidamente reemplazando o complementando a otros marcadores o metodologías genéticas en las aplicaciones evolutivas y la conservación de las especies. Dado su elevado nivel de polimorfismo, resultan útiles para definir un único genotipo multilocus, de particular interés en estudios donde se requiera una escala muy fina de resolución, y en los cuáles otros tipos de marcadores podrían presentar

algunas limitaciones, siendo especialmente estos estudios los referidos a análisis de paternidad, parentescos, asignación de individuos a una raza, planificación de apareamientos y otros aspectos de índole reproductiva (Jones *et al.*, 1986). En los estudios de genética poblacional, estos marcadores permiten la identificación de cada alelo por locus, obtener datos poblacionales, calcular las frecuencias alélicas y, a partir de éstas, estimar las distancias genéticas entre las poblaciones o individuos (Bowcock *et al.* 1994; Ponsuksili *et al.*, 1999).

Fernández *et al.* (2006) en un estudio utilizaron ocho loci de microsatélites para analizar y estimar el grado de relación genética entre 21 líneas de maíz del CIMMYT, con el objeto de comprobar su utilidad para el mejoramiento genético de maíz de Venezuela. El análisis de distancia genética reveló que la información obtenida a partir de los ocho loci microsatélites permitió diferenciar las líneas analizadas.

Romero *et al.* (2010) evaluaron 41 plantas de cacao pertenecientes a cuatro cultivares diferentes y conservadas como colecciones *ex situ* en un invernadero de la región amazónica de Ecuador, utilizando nueve microsatélites con el objetivo de verificar la relación genética de estas plantas con el grupo de cacao Nacional. Los pares de iniciadores microsatélites utilizados en su estudio fueron altamente discriminativos y demostraron tener un alto nivel de exactitud para verificar la identidad genética y poder agrupar a las 41 plantas de cacao con el grupo de cacao Nacional Ecuatoriano, mediante análisis del clúster jerárquico.

Cadima *et al.* (2013) realizaron un estudio con 22 microsatélites para conocer la diversidad genética de la colección de papa y sus parientes silvestres, y encontraron que dicha diversidad varía en función de la especie.

Arnao *et al.* (2010) evaluaron la diversidad genética de 14 variedades de soya utilizando 18 iniciadores SSR, los cuales resultaron ser polimórficos, produciendo un total de 97 alelos con variantes de entre 2 y 12 alelos, con un promedio de 5.93 alelos por locus; además, el análisis de agrupamiento realizado utilizando el coeficiente de Dice, permitió la identificación de tres grupos en los cuales fue posible la distinción de todos los cultivares.

2.4. Bases moleculares de la heterosis

La explotación de la heterosis en el maíz ha revolucionado el fito-mejoramiento y la producción comercial, aumentando hasta en seis veces o más el rendimiento de grano, pero a pesar de su importancia, los mecanismos moleculares de la heterosis, aún no son del todo conocidos, por ello, lograr entender el modelo de heterosis a nivel molecular ha sido de particular interés en numerosas investigaciones. Con respecto a lo anterior, Comings y MacMurray (2000) indican que la heterosis molecular se produce cuando los sujetos heterocigóticos para un polimorfismo genético específico muestran un efecto significativamente mayor (heterosis positiva) o menor efecto (heterosis negativa) para un rasgo cuantitativo o dicotómico con respecto a los sujetos homocigóticos para el alelo.

Por su parte, Song y Messing (2003) sugieren que los híbridos pueden generar un complemento único genético derivado de la combinación y de la interacción de

diferentes genomas parentales. Como consecuencia, estas características, que en cualquier caso no pueden ser fijas en todas las líneas puras homocigóticas, podrían ser las responsables de la heterosis en el cultivo de maíz.

En términos generales, Birchler *et al.* (2003) proponen dos mecanismos extremos: i) que la heterosis se debe a una expresión alélica combinada de varios genes en el híbrido o ii) a una interacción alélica entre muchos genes reguladores que en el híbrido determinan la desviación de la expresión génica de predicción media con respecto a los padres.

Guo *et al.* (2004) sugieren que la combinación de diferentes funcionalidades en los alelos parentales dentro del híbrido podría tener un impacto importante en la heterosis. Veitia y Vaiman (2011) indican que interacciones negativas dominantes podrían dar lugar a respuestas heteróticas, ya que en sus estudios los individuos más heteróticos eran aquellos que mostraban mayores concentraciones de diversidad alélica y de multímeros, unas proteínas de estructura cuaternaria.

En estudios recientes, utilizando enfoques transcriptómicos, proteómicos, metabolómicos, epigenéticos y de biología de sistemas, Chen (2013) proporciona nuevos conocimientos sobre las bases moleculares de la heterosis en híbridos y alopoliploides, los cuales sugieren que la heterosis surge de las interacciones alélicas entre los genomas de los padres, lo que podría llevar a una programación alterada de los genes que promueven el crecimiento, la tolerancia al estrés y la aptitud de los híbridos. Estos avances conceptuales podrían ayudar a mejorar la productividad de las plantas y de los animales a través de la manipulación de la heterosis.

III.- MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Fase 1

3.1.1. Material Parental

El material genético de partida fue un grupo de 42 líneas endogámicas S₇, S₈ y S₉ (Cuadro 1), con adaptación a zonas de altitud intermedia (1400-1800 msnm) de la parte central de México, conocida en su conjunto como región del Bajío. Las líneas fueron generadas por una empresa privada de producción de semillas.

Cuadro 1.- Líneas endogámicas utilizadas en el estudio.

No.	Línea	No.	Línea
1	FA01	22	FA23
2	FA02	23	FA24
3	FA03	24	FA25
4	FA04	25	FA27
5	FA05	26	FA28
6	FA06	27	FA29
7	FA07	28	FA30
8	FA09	29	FA31
9	FA10	30	FA32
10	FA11	31	FA33
11	FA12	32	MA01
12	FA13	33	MA02
13	FA14	34	MA03
14	FA15	35	MA04
15	FA16	36	MA05
16	FA17	37	MA06
17	FA18	38	A1
18	FA19	39	A2
19	FA20	40	A3
20	FA21	41	A4
21	FA22	42	A5

3.1.2. Análisis de las líneas parentales mediante marcadores moleculares

Se analizó un individuo (plántula) de cada una de las líneas mediante 26 loci de secuencias simples repetidas de ADN (microsatélites) (Cuadro 2). Los marcadores

utilizados están documentados en la base *Maize Genetics and Genomics Database* en la dirección de internet <http://maizegdb.org/ssr.php>.

Cuadro 2. Lista de loci de SSR utilizados para el análisis, localización cromosómica e iniciadores utilizados para la amplificación.

Locus	BIN	Iniciador hacia adelante//Iniciador en reversa
phi053	3.05	ctgcctctcagattcagagattgac//aacccaacgtactccggcag
phi072	4.01	gtgcatgattaatttctccagcctt//gacagcgcgcaaatggattgaact
phi093	4.08	gtcgtcagcttcacgcctacaag//ccatgcatgcttgcaacaatggataca
phi024	5.00	ctccgcttccactgttcca//tgtccgctgcttaccaca
phi085	5.06	agcagaacggcaagggtact//ttggcacaccacgacga
phi034	7.02	tagcgacaggtggccttctt//ggggagcacgccttctgtt
phi121	8.04	aggaaaatggagccgggtaacca//ttggtctggaccaagcacatacac
phi056	1.01	acttgcttgcctgccgttac//cgcacaccacttcccagaa
phi064	1.11	cgaattgaaatagctgcgagaacct//acaatgaacgggtgttatcaacacgc
phi050	10.03	aacatgccagacacatacggacag//atggctctagcgaagcgtagag
phi96100	2.00-2.01	aggaggacccaactcctg//ttgcacgagccatcgtat
phi101249	?	ttcctctccactgcctc//aagaacagcgaagcagagaagg
phi109188	?	aagctcagaagccggagc//ggtcatcaagctctctgatc
phi029	3.04	tcttcttctccacaagcagcga//ttccagttgccaccgacgaagaact
phi073	3.05	gtgcgagaggcttgacaa//aagggttgaggcgagggaa
phi96342	10.XX	gtaatcccacgtctatcagcc//tccaacttgaacgaactcctc
phi109275	?	cggttcatgctagctctgc//gttgtggtgtgtgtgtgt
phi427913	1.XX	caaaagctagtcggggtca//attgttcgatgacacactacgc
phi265454	1.10-1.11	caagcacctcaacctcttcg//tccacgctgctcaccttc
phi402893	2.00	gccaagctcagggtaag//cacgagcgttattcgtgt
phi346482	1.XX	gcatcacactcacacaaca//gtggaataggaggcgagagagg
phi308090	4.04-4.05	cagtctgccacgaagcaa//ctgtcgtttcggcttctt
phi330507	5.02-5.06	gtaaagtacgatgcgcctccc//cgggtagaggagaggtgtg
phi213398	4.01-4.04	gtgacctaaactggcagacc//caagaggtacctgcatggc
phi339017	5.XX	actgctgtgggtagagg//gcagcttgagcaggaagc
phi159819	6.00-6.08	gatgggccttagaccagctt//gcctctccatctctcgtt

3.1.3. Extracción de ADN, amplificación y análisis de fragmentos

Se extrajo ADN de plántulas de cinco días de edad utilizando un kit comercial (ChargeSwitch gDNA Plant Kit, Invitrogen) en un robot de extracción KingFisher Flex (Thermo Scientific), siguiendo las instrucciones del fabricante. La amplificación se realizó mediante PCR utilizando un termociclador (Gene AMP[®] PCR System 9700). Los iniciadores “hacia adelante” fueron provistos en el extremo 5’ con una etiqueta fluorescente: HEX, 6-FAM o ROX (PE Applied Biosystems). El protocolo de amplificación por PCR consistió en una desnaturalización inicial de 4 min a 95° C, seguida de 25 ciclos de 1 min a 95° C (desnaturalización), 2 min a 55° C (alineamiento),

y 2 min a 95° C (extensión), y una extensión final de 1 h a 72° C. Cada reacción individual de PCR consistió de 2 µL de buffer PCR 10X (500 mM KCl, 100 mM 10 Tris-HCl, pH 9.0 a 25° C), 0.4µL de 10 mM dNTPs (2.5 mM cada dNTP), 1.2 µL de 25 mM MgCl₂, 0.2 µL de Taq ADN polimerasa (1 unidad en total), 2.5 µL de ADN molde (10 ng µL⁻¹), 2 µL de 4 pM de cada par de iniciadores (1 µL de cada uno, adelante y en reversa), y 11.7 µL de agua desionizada. El análisis de fragmentos consistió en la evaluación de los productos amplificados por PCR mediante inyección electrocinética de muestras y electroforesis capilar en un secuenciador de ADN ABI 3130 (Applied Biosystems), utilizando como estándar interno el fluoróforo LIZ-500. Las lecturas se realizaron mediante el programa GeneMapper 4.0.

3.1.4. Divergencia genética entre progenitores y formación de grupos

Se obtuvo el perfil alélico de cada una de las líneas y a partir de éste se generó una matriz de distancias genéticas de Rogers modificadas por Wright (1978) para cada par de líneas.

3.2. Fase 2

3.2.1. Formación de híbridos simples

Durante el ciclo Otoño-Invierno de 2011 se realizaron cruzas dirigidas entre pares de líneas con las mayores distancias genéticas entre ellas, así como cruzas entre líneas con las menores distancias, en la localidad de Sauta, Nayarit, obteniendo un total de 107 híbridos de cruce simple.

3.2.2. Evaluación de híbridos y líneas progenitoras

En el ciclo Primavera-Verano 2012 se evaluaron los híbridos simples y cuatro híbridos comerciales como testigos (Aspros MX3535, Aspros MX3627, Cimarrón y Garañón) en las localidades de Celaya y Silao, en Guanajuato, San Martín Hidalgo y Zapotlán del Rey, en Jalisco, y Yurécuaro, en Michoacán. Las líneas progenitoras sólo fueron evaluadas en las localidades de Celaya, Guanajuato, y San Martín Hidalgo, Jalisco.

3.2.3. Diseño y unidad experimental

El diseño experimental utilizado fue de bloques completos al azar con dos repeticiones; la unidad experimental fue de dos surcos de 5 m de longitud y 0.75 m de ancho, con 40 plantas por surco. La siembra se realizó de forma mecánica y la conducción en campo fue bajo régimen de temporal, con una fórmula de fertilización 120-80-00.

3.2.4. Variables evaluadas

Se registraron las variables de rendimiento de grano (REND) en $t\ ha^{-1}$ ajustado al 14 % de humedad, considerando el peso de campo (PC) en kg y la humedad de grano (%H) en una muestra de aproximadamente 200 g, utilizando un medidor de humedad (Dickie John). Los componentes de rendimiento registrados fueron: longitud de mazorca (LM) en cm, diámetro de la parte media de la mazorca (DM) en cm, número de hileras (NH) en la porción media de la mazorca, número de granos por hilera (GxH), peso de 100 granos (P100G) en g, volumen de 100 granos (V100G) en mL, a partir de una muestra al azar de 100 granos por muestra de cinco mazorcas, peso de olote (PO) en g, y diámetro de olote (DO) en cm; además, se midió la altura de planta (AP) y de

mazorca (AM) en cm en una planta representativa por parcela experimental, y se estimó el porcentaje de mazorcas podridas (%MPOD).

3.2.5 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de conglomerados de las líneas con base en las distancias genéticas mediante el método de agrupamiento UPGMA, utilizando el programa computacional NTSYS (Rohlf, 2009).

Para la evaluación de los híbridos se realizó un análisis de varianza combinado para modelar las variables agronómicas de manera separada, debido a que no todas las variables agronómicas se tomaron a través de las cinco localidades. Por su parte, sólo a los datos obtenidos de 38 líneas progenitoras se les aplicó un análisis de varianza combinando los ambientes, debido a la pérdida de cuatro líneas durante el experimento; dichos análisis se hicieron mediante el paquete estadístico SAS 9.1 (SAS Institute, 2003). Las fuentes de variación para el análisis de los híbridos fueron Localidades (L), Repeticiones dentro de localidades (Repeticiones/L), Genotipos (G) e Interacción Genotipo por Localidad ($G \times L$); mientras que para las líneas fueron Ambientes, Líneas e interacción Líneas x Ambientes. Los valores promedio de heterosis de únicamente 101 híbridos simples también fueron sometidos a un análisis de varianza combinado, lo anterior debido a la pérdida de los algunos genotipos durante el experimento.

Se realizó un análisis de regresión lineal de los promedios de cada una de las variables agronómicas sobre las distancias genéticas calculadas entre los progenitores de cada uno de los híbridos, utilizando el programa estadístico SAS 9.1 (SAS Institute, 2003).

Se determinó la heterosis (H) de 101 híbridos simples con respecto al progenitor medio utilizando la siguiente fórmula:

$$H = \frac{F_1 - \frac{P_1 + P_2}{2}}{\frac{P_1 + P_2}{2}} \times 100$$

Donde:

F_1 = Rendimiento del híbrido

P_1 = Rendimiento del Progenitor 1

P_2 = Rendimiento del Progenitor 2

Utilizando el procedimiento PROC CORR del programa SAS 9.1 (SAS Institute, 2003), se realizó un análisis de correlación fenotípica de Pearson entre los valores de heterosis de cada una de las variables y las distancias genéticas, así como un análisis de regresión lineal tomando como variable independiente la distancia genética entre las líneas parentales de cada uno de los híbridos y como variables dependientes las estimaciones de heterosis para rendimiento y sus componentes, utilizando el paquete SAS 9.1 (SAS Institute, 2003).

IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Fase 1

4.1.1. Distancias genéticas y formación de grupos de líneas

La divergencia genética entre pares posibles de líneas estimada mediante las distancia de Rogers modificadas por Wright (1978) puede variar entre 0.000 (indicando que dos líneas son idénticas en su perfil alélico) y 1.000 (indicando que dos líneas presentan alelos diferentes en todos los loci). En el presente estudio las distancias genéticas observadas entre pares de líneas fluctuaron desde 0.339 hasta 0.965, con una media de 0.824 (Cuadro 1A del Anexo).

En la Figura 1 se muestran tres grupos de líneas a una distancia genética aproximada de 0.850, los cuales fueron utilizados para realizar 80 cruzas divergentes con distancias aproximadas de 0.700 a 0.966 entre grupos, y 27 cruzas emparentadas dentro de cada grupo con distancias menores a 0.700, generando 107 cruzas para ser evaluadas a través de ambientes (Cuadro 3A del Anexo).

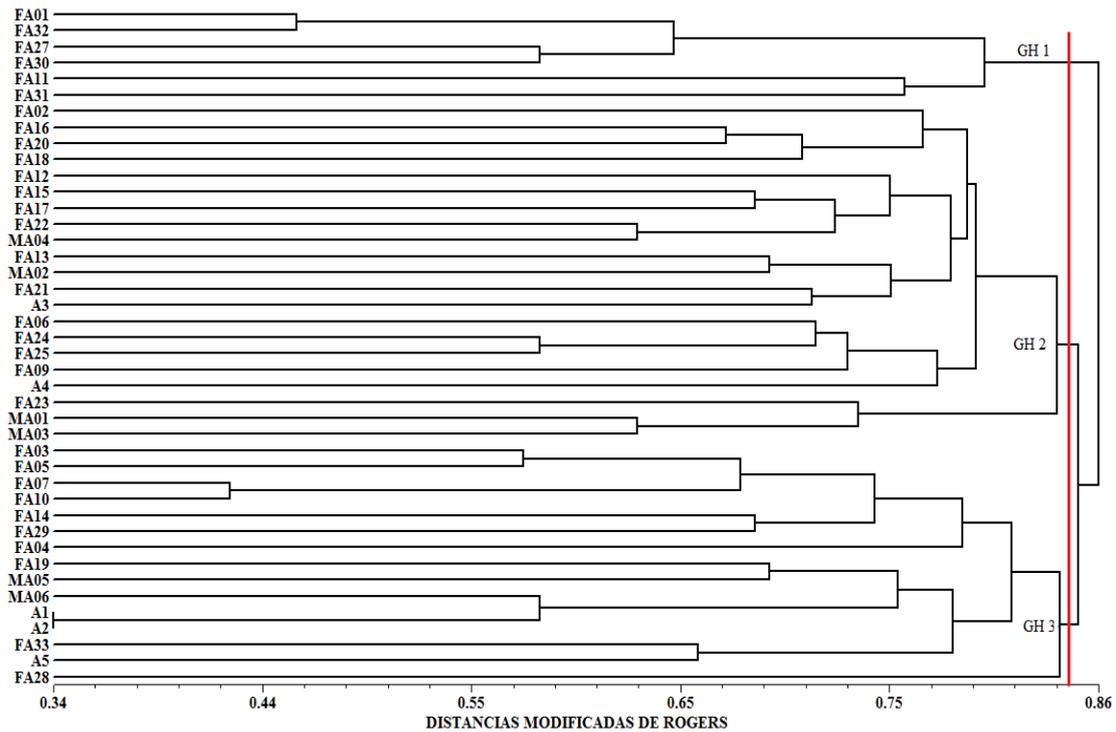


Figura 1. Agrupamiento de 42 líneas homocigóticas en tres grupos de similitud de acuerdo con sus distancias genéticas.

4.2. Fase 2.

4.2.1. Evaluación en campo de híbridos y líneas

4.2.1.1. Análisis de varianza de híbridos

Se detectaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) entre localidades y entre genotipos para las variables rendimiento (REND) y mazorcas podridas (MPOD) (Cuadro 3). La interacción genotipos \times localidades resultó significativa para las dos variables. Estos resultados demuestran la existencia de diversidad genética entre las cruza, la cual es un reflejo de un diferente nivel de heterosis entre los progenitores involucrados en la formación de los híbridos, el cual probablemente está afectado por el grado de parentesco existente o el grado de divergencia, denotado por las distancias genéticas encontradas entre las líneas progenitoras.

La significancia estadística de los efectos de interacción genotipo \times localidades implica un cierto grado de especificidad de algunos de los genotipos hacia un ambiente determinado, poniendo de manifiesto la necesidad de realizar un análisis de fondo al momento de formular recomendaciones de materiales para una región dada (Muñoz, 2003), debiéndose afinar el área óptima de recomendación en caso de una eventual liberación comercial de los materiales sobresalientes.

Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de varianza combinado de 111 híbridos a través de cinco localidades para la variable RENDIMIENTO y de dos localidades para la variable MPOD.

Fuente de Variación	GL	Rendimiento	GL	Mazorcas Podridas
Localidades (L)	4	437.02 **	1	404.90 **
Repeticiones/L	5	12.70 **	2	15.12 NS
Genotipos (G)	110	119.95 **	110	141.71 **
G \times L	440	10.50 **	110	41.35 **
Error	550	2.43	220	19.47
Coefficiente de variación (%)		12.83		51.31
Media		12.14 (t ha ⁻¹)		8.60 (%)

*, **Niveles de significancia a $P \leq 0.05$ y $P \leq 0.01$ respectivamente. GL=grados de libertad, NS=No significativo.

En el análisis de varianza para las variables AP y AM (Cuadro 4) se observaron diferencias altamente significativas entre localidades para ambas variables; de igual manera, los genotipos y la interacción genotipos \times localidades tuvieron significancia, lo que muestra la alta contribución de los efectos genéticos y presencia de variación genética en el conjunto de cruzamientos bajo evaluación, así como su adaptación diferencial en los distintos ambientes.

Cuadro 4. Cuadrados medios del análisis de varianza combinado de 111 híbridos a través de tres localidades para la variable AP y AM.

Fuente de Variación	GL	ALTURA DE PLANTA	ALTURA DE MAZORCA
Localidades (L)	2	62660.99 **	33735.15 **
Repeticiones/L	3	200.65 NS	224.69 *
Genotipos (G)	110	3765.96 **	2079.55 **
G × L	220	169.51 **	138.26 **
Error	330	118.09	84.46
Coefficiente de variación (%)		4.34	6.85
Media		250.19 (cm)	134.09 (cm)

*, **Niveles de significancia a $P \leq 0.05$ y $P \leq 0.01$ respectivamente, NS= no significativo. GL=grados de libertad.

En los resultados del análisis de varianza combinado para los componentes de rendimiento (Cuadro 5) se encontraron diferencias altamente significativas entre localidades y entre genotipos para todas las variables; de igual manera se encontró significancia en la interacción genotipos × localidades en casi todas las variables, excepto para número de hileras (NH); es decir, de manera general los componentes de rendimiento tienen una expresión multifactorial y, para estimar de manera adecuada los efectos de dichos factores, las evaluaciones deben establecerse en múltiples ambientes.

Cuadro 5. Cuadrados medios del análisis de varianza combinado de 111 híbridos a través de dos localidades para variables de componentes de rendimiento.

Fuente de Variación	GL	LM	DM	NH	GxH	P100G	V100G
Localidades(L)	1	4.1 **	0.9 **	12.3 **	165 **	1447 **	2133.1 **
Repeticiones/L	2	0.1 NS	0 NS	0.6 NS	0.09 NS	12.2 NS	25.5 NS
Genotipos (G)	110	3.7 **	0.3 **	8.2 **	27.5 **	46.4 **	88.8 **
G × L	110	0.7 **	0 **	0.8 NS	4.7 **	11.5 **	20.8 **
Error	220	0.3	0	0.7	2.7	5.9	10.5
C.V. (%)		3.9	2.4	5.3	5.2	7.1	6.8
Media		15 cm	4.9 cm	16.3 #	31.7 #	33.8 g	47.4 mL

*, **Niveles de significancia a $P \leq 0.05$ y $P \leq 0.01$ respectivamente, NS= no significativo. GL=grados de libertad, LM=longitud de mazorca, DM= diámetro de mazorca, NH= número de hileras, GxH= granos por hilera, P100G= peso de 100 granos, V100G= volumen de 100 granos, C.V.=coeficiente de variación.

4.2.1.2. Análisis de regresión lineal

El análisis de regresión lineal entre rendimiento (REND) y distancias genéticas entre progenitores mostró un coeficiente de regresión de 21.9 t ha⁻¹ y un coeficiente de determinación R²= 0.46, con significancia estadística de (P<0.01), lo que indica que a mayor distancia genética correspondió un mayor rendimiento (Figura 2), con incrementos de 2.19 t ha⁻¹ por cada incremento de una décima en la distancia genética determinada con este grupo de microsatélites, lo que permitiría identificar con un buen grado de certidumbre híbridos con alto potencial de rendimiento, con los consecuentes ahorros de esfuerzo, tiempo y recursos que implica la evaluación de las líneas por su ACG o las cruzas por su ACE.

Un posible factor de éxito en los resultados obtenidos en la presente investigación es que, a diferencia de estudios previos, el enfoque que se imprimió fue conceptualizar a los marcadores como indicadores muestrales de la identidad genética de las líneas involucradas, para tratar de inferir sobre la divergencia existente en el resto del genoma, incluyendo a los factores involucrados en rendimiento y sus componentes, más que buscar ligamientos genéticos directos entre marcadores moleculares y regiones cromosómicas relacionadas con el comportamiento agronómico, como se hizo en varios estudios (Dudley *et al.*, 1991; Cho *et al.*, 2004; Mirshamsi *et al.*, 2008).

Por su parte, las variables AP y AM mostraron una regresión lineal positiva y altamente significativa (P<0.01), con coeficientes de regresión de 173.9 y 117.9 cm y con coeficientes de determinación R²= 0.53 y 0.45, respectivamente; es decir, para estos casos el modelo explicó en 52 y 45 % la variación de altura de planta y mazorca en función de la distancia genética. La variable MPOD, mostró una regresión negativa y

altamente significativa, con un coeficiente de regresión de -21.5 y un coeficiente de determinación $R^2 = 0.14$, considerando a éste como buen indicador de desempeño relacionado con el grado de parentesco de los progenitores; es decir, a medida que aumentó la divergencia genética, de manera general el porcentaje de pudrición de mazorca presentó una clara tendencia a disminuir.

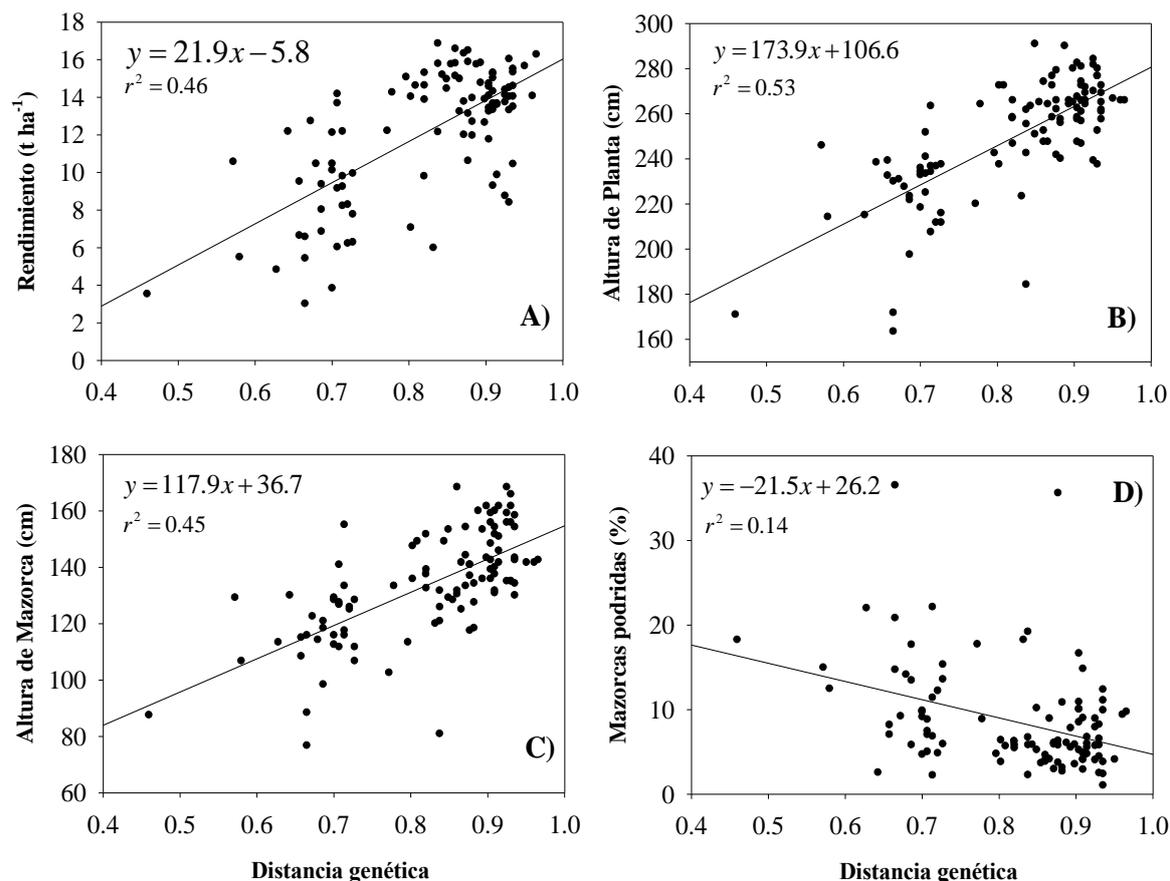


Figura 2. Distancias genéticas (DG) vs. A) Rendimiento (REND, $t\ ha^{-1}$), B) Altura de Planta (AP, cm), C) Altura de Mazorca (AM, cm) y D) Mazorcas podridas (MPOD, %).

Se observó una respuesta positiva en los análisis de regresión de las distancias genéticas con los componentes de rendimiento (Figura 3), con diferentes grados de magnitud para cada componente en relación con la divergencia genética de los progenitores. La variable LM mostró una regresión positiva y altamente significativa, con un coeficiente de regresión de 4.26 cm y un coeficiente de determinación $R^2 = 0.21$; la variable DM tuvo una significancia de ($P < 0.05$), un coeficiente de regresión de 0.49

cm y un coeficiente de determinación $R^2= 0.04$. Por otra parte, la variable GxH mostró un coeficiente de regresión de 13.12 y un coeficiente de determinación $R^2= 0.27$, con una significancia de ($P<0.01$); por razones obvias, dicha variable se encuentra asociada con LM, puesto que al existir un incremento en la longitud, existe un mayor número de granos por hilera. Las variables P100G y V100G tuvieron una regresión lineal con coeficientes de regresión de 6.93 g y 10.24 mL, y coeficientes de determinación $R^2=0.04$ y 0.05, respectivamente, ambos con valores relativamente bajos, pero aún así con significancia estadística ($P<0.05$), lo que sin duda se refleja en la variable integradora RENDIMIENTO.

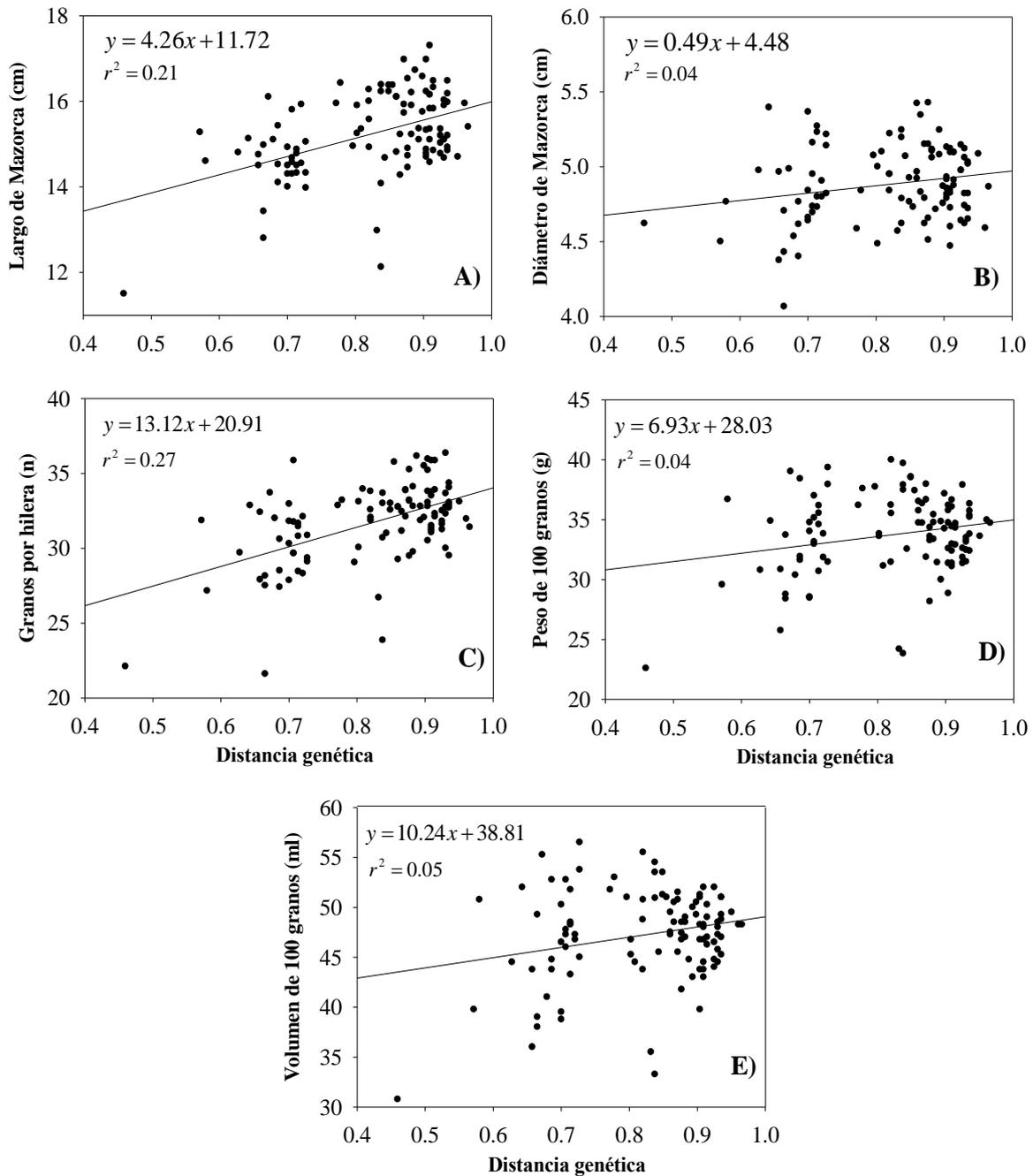


Figura 3. Distancias genéticas (DG) vs. A) Longitud de Mazorca (LM, cm), B) Diámetro de Mazorca (DM, cm), C) Granos por hilera (GxH, n), D) Peso de 100 granos (P100G, g) y E) Volumen de 100 granos (V100G, mL).

4.2.1.3. Análisis de varianza de líneas

Con base en el análisis de varianza combinado (Cuadro 6) de 38 líneas, hubo diferencias significativas entre ambientes ($P \leq 0.01$) únicamente para las variables REND, LM, GxH, DO, P100G y V100G, lo que indica que las condiciones climáticas,

edáficas y de ubicación geográfica causaron diferencias entre los promedios globales de esas variables por localidad. Por otro lado, hubo alta significancia entre líneas ($P \leq 0.01$) para la variable NH, y significancia ($P \leq 0.05$) en las variables DO, P100G y V100G. Estos resultados indican que la constitución genética intrínseca de cada una de las líneas hace que difiera la expresión promedio de estas variables entre líneas, resultado que era de esperarse, puesto que son líneas con cierto grado de homocigosis. La interacción líneas \times ambientes no mostró diferencias significativas; es decir, no existen efectos específicos del ambiente sobre el genotipo de las líneas en la expresión de las variables, ya que éstas siguen un mismo patrón de respuesta a través de los ambientes de prueba.

Cuadro 6. Cuadrados medios del análisis de varianza combinado para 11 variables de 38 líneas progenitoras a través de dos ambientes.

	Fuentes de Variación						
	Ambientes (A)	Repeticiones/A	Líneas (L)	L \times A	Error	C.V.	Media
GL	1	2	37	37	74		
REND	32.62	2.39	3.34	1.31	2.17	38.62	3.87 (t ha ⁻¹)
	**	NS	NS	NS			
LM	28.22	0.34	1.52	0.73	1.84	10.79	12.57 (cm)
	**	NS	NS	NS			
DM	0.17	0.09	0.1	0.02	0.09	7.54	4 (cm)
	NS	NS	NS	NS			
NH	0.32	0.48	6.46	0.99	3.07	11.6	15.11 (#)
	NS	NS	**	NS			
GxH	769.5	1.53	8.45	6.04	6.53	11.52	22.18 (#)
	**	NS	NS	NS			
PM	144.49	439.22	375.21	177.18	336.37	19.58	93.63 (g)
	NS	NS	NS	NS			
PO	66.71	8.62	18.64	6.02	19.16	26.69	16.34 (g)
	NS	NS	NS	NS			
DO	0.56	0.01	0.1	0.01	0.05	8.85	2.72 (cm)
	**	NS	*	NS			
PG	14.53	404.25	274.12	143.52	248.63	20.41	77.22 (g)
	NS	NS	NS	NS			
P100G	723.41	45.29	30.62	13.43	18.96	18.81	24.14 (g)
	**	NS	*	NS			
V100G	1021.28	64.53	60.67	20.77	35.97	18.43	32.52 (ml)
	**	NS	*	NS			

*, **Niveles de significancia a $P \leq 0.05$ y $P \leq 0.01$ respectivamente NS= no significativo. GL=grados de libertad, REND= rendimiento, LM=longitud de mazorca, DM= diámetro de mazorca, NH= número de hileras, GxH= granos por hilera, PM= peso de mazorca, PO= peso de olote, DO=diámetro de olote, PG= peso del grano, P100G= peso de 100 granos, V100G= volumen de 100 granos, C.V.= coeficiente de variación.

4.2.1.4. Análisis de heterosis de híbridos

En relación con los cuadrados medios del análisis de varianza combinado de los valores de heterosis para 101 cruzas simples (Cuadro 7), hubo diferencias significativas ($P \leq 0.01$) entre ambientes y entre cruzas para todas las variables, resultado que refleja el efecto de heterosis de acuerdo con el grado de divergencia genética de las líneas progenitoras, ya que según Alfaro y Segovia (2009) la magnitud de la heterosis en maíz depende de la divergencia genética de los padres, y cuando ésta es moderada o intermedia, el grado de heterosis tiende a aumentar. La interacción cruza \times ambiente mostró efectos con alta significancia ($P \leq 0.01$) para la mayoría de las variables, excepto NH. Esto indica que algunos de los valores promedio de heterosis de las cruza fueron diferentes a través de los ambientes.

Cuadro 7. Cuadrados medios del análisis de varianza combinado de los valores de heterosis con respecto al progenitor medio para nueve variables de 101 cruza simples evaluadas en dos localidades Primavera-Verano 2012.

	Ambiente (A)	Repetición/A	Fuentes de Variación			C.V. (%)	Media (%)
			Cruza (C)	C \times A	Error		
GL	1	2	100	100	200		
REND	390417.03 **	419.81 NS	52995.2 **	10378 **	1041.01	12.47	258.7
LM	141.38 **	2.25 NS	246.06 **	43.79 **	20.76	20.1	22.66
DM	426.29 **	11.86 NS	135.96 **	14.64 **	8.35	13.17	21.93
NH	503.46 **	9.59 NS	123.25 **	37.6 NS	32.8	88.62	6.46
GxH	31990.16 **	3.12 NS	689.56 **	96.28 **	50.16	16.13	43.89
PO	89853.03 **	14.44 NS	2926.43 **	634.66 **	191.05	23.26	59.41
DO	2177.83 **	15.86 NS	104.53 **	12.54 **	7.81	28.76	9.71
P100G	25473.42 **	238.59 NS	1108.69 **	230.48 **	111.43	22.14	47.67
V100G	18569.6 **	284.17 NS	1005.37 **	202.93 **	98.46	20.81	47.66

*, **Niveles de significancia a $P \leq 0.05$ y $P \leq 0.01$ respectivamente NS= no significativo. GL=grados de libertad, REND= rendimiento, LM=longitud de mazorca, DM= diámetro de mazorca, NH= número de hileras, GxH= granos por hilera, PO= peso de olote, DO=diámetro de olote, P100G= peso de 100 granos, V100G= volumen de 100 granos, C.V.= coeficiente de variación.

4.2.1.5. Análisis de correlación

Los coeficientes de correlación (r) con significancia estadística (0.01 y 0.05) de las distancias genéticas con los valores de heterosis para rendimiento y sus componentes (Cuadro 8) oscilaron entre 0.22 (V100G) y 0.46 (REND); por el contrario, la única variable que no presentó correlación alguna fue NH, pues tuvo la magnitud más baja (0.18). Estos resultados confirman que el uso de marcadores SSR para estimar la divergencia genética de las líneas pueden ser efectivos en la predicción de rendimiento de híbridos con valores positivos de heterosis; estos resultados son similares a los encontrados por Mladenović *et al.* (2012), quienes utilizando marcadores SSR encontraron una correlación positiva entre DG con el rendimiento de grano de la F_1 (0.22), así como en la heterosis media y heterosis con respecto al progenitor superior (0.12 y 0.45, respectivamente); de igual manera, Pajić *et al.* (2010) obtuvieron correlaciones positivas y significativas entre DG y la heterosis del rendimiento de grano en líneas puras de maíz palomero. Por el contrario Dhliwayo *et al.* (2009) no encontraron asociación significativa entre la DG con el rendimientos del híbrido, ACE y heterosis, aunque reconocieron la utilidad de los marcadores SSR para la clasificación preliminar de las líneas parentales, de acuerdo con su raza y en grupos heteróticos, así como en el uso de especies exóticas y germoplasma mal caracterizado.

Entre los híbridos de cruce simple con el mayor rendimiento (por encima de las 16 toneladas por hectárea) están las cruzas 72, 49, 46, 13 y 70, y se observó que éstas pertenecen al cruzamiento entre líneas que tuvieron distancias genéticas que oscilaron entre 0.838 y 0.966, cuyos valores de heterosis en promedio fueron buenos: 346, 292, 339, 330 y 209, respectivamente (Cuadro 3A del Anexo). La distancia genética entre las líneas puras está de acuerdo con los datos sobre el origen de éstas y también con el

rendimiento de grano y heterosis de sus cruzas, lo que concuerda con lo afirmado por Samphantarak (2003) en el sentido de que altos valores de distancias genéticas, así como la capacidad de adaptación de las líneas parentales, son dos factores principales en la formación de híbridos de alto rendimiento de grano.

Cabe mencionar que algunos valores de heterosis altos (538 y 526) no necesariamente pertenecieron a cruzas entre líneas con la más alta divergencia, tal es el caso de las cruzas 86 y 30, cuyo promedio de rendimiento fue de 12.7 y 11.9 toneladas por hectárea, con una distancia genética de 0.67 y 0.87, respectivamente. Lo anterior puede deberse a que la divergencia genética es una condición necesaria para la existencia de heterosis, pero no suficiente para asegurar la máxima expresión de la misma (Oliboni *et al.*, 2012), además se debe considerar que debido a la estructura de la ecuación para estimar heterosis, su valor tiende a ser grande cuando alguno de los progenitores presenta un comportamiento pobre (Esquivel *et al.*, 2011).

Cuadro 8. Correlación de la heterosis de rendimiento y sus componentes vs distancia genética.

Variables	Distancia Genética
REND (rendimiento)	0.4682**
LM (longitud de mazorca)	0.41599**
DM (diámetro de mazorca)	0.43743**
NH (número de hileras)	0.1895
GxH (granos por hilera)	0.39474**
PO (peso de olote)	0.41925**
DO (diámetro de olote)	0.29322**
P100G (peso de 100 granos)	0.23979*
V100G (volumen de 100 granos)	0.22365*

*, **Niveles de significancia a $P \leq 0.05$ y $P \leq 0.01$ respectivamente.

Las Figuras 4 y 5 corresponden al modelo de regresión de los valores de heterosis para rendimiento y sus componentes sobre la distancia genética. En estas figuras se observa que los coeficientes de determinación (R^2) más altos resultaron para REND (21) y sus componentes LM, DM, PO y GxH (18, 17, 17 y 15, respectivamente). Estos resultados indican que los valores de heterosis con respecto a cada una de estas variables explican únicamente de 15 a 21 % de la variación total al utilizar distancias genéticas; para el resto de los componentes el valor de R^2 fue de magnitud muy baja, que son resultados muy similares a los señalados por Flint-García *et al.* (2009), quienes encontraron que el peso de mazorca y el peso de grano fueron los caracteres mayormente explicados con un modelo de regresión lineal, por lo que se infiere que la capacidad para predecir los niveles de heterosis usando la distancia genética entre los padres varía para las diferentes variables, ya que para algunos es posible explicar sólo una proporción significativa de la variación de heterosis, mientras que para otros son más difíciles de predecir.

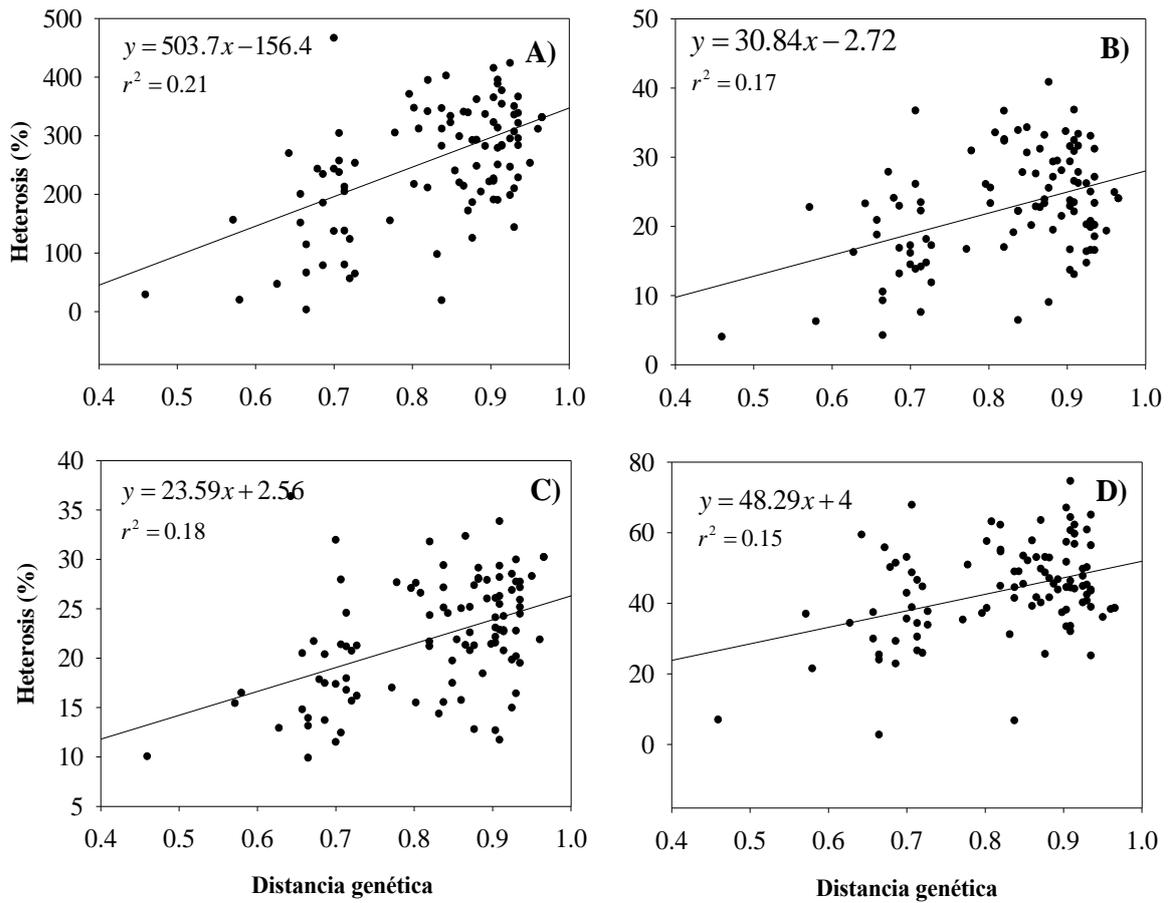


Figura 4. Distancias genéticas vs. Heterosis: A) Rendimiento, B) Longitud de mazorca, C) Diámetro de mazorca y D) Granos por hilera. Significancia ($P \leq 0.01$).

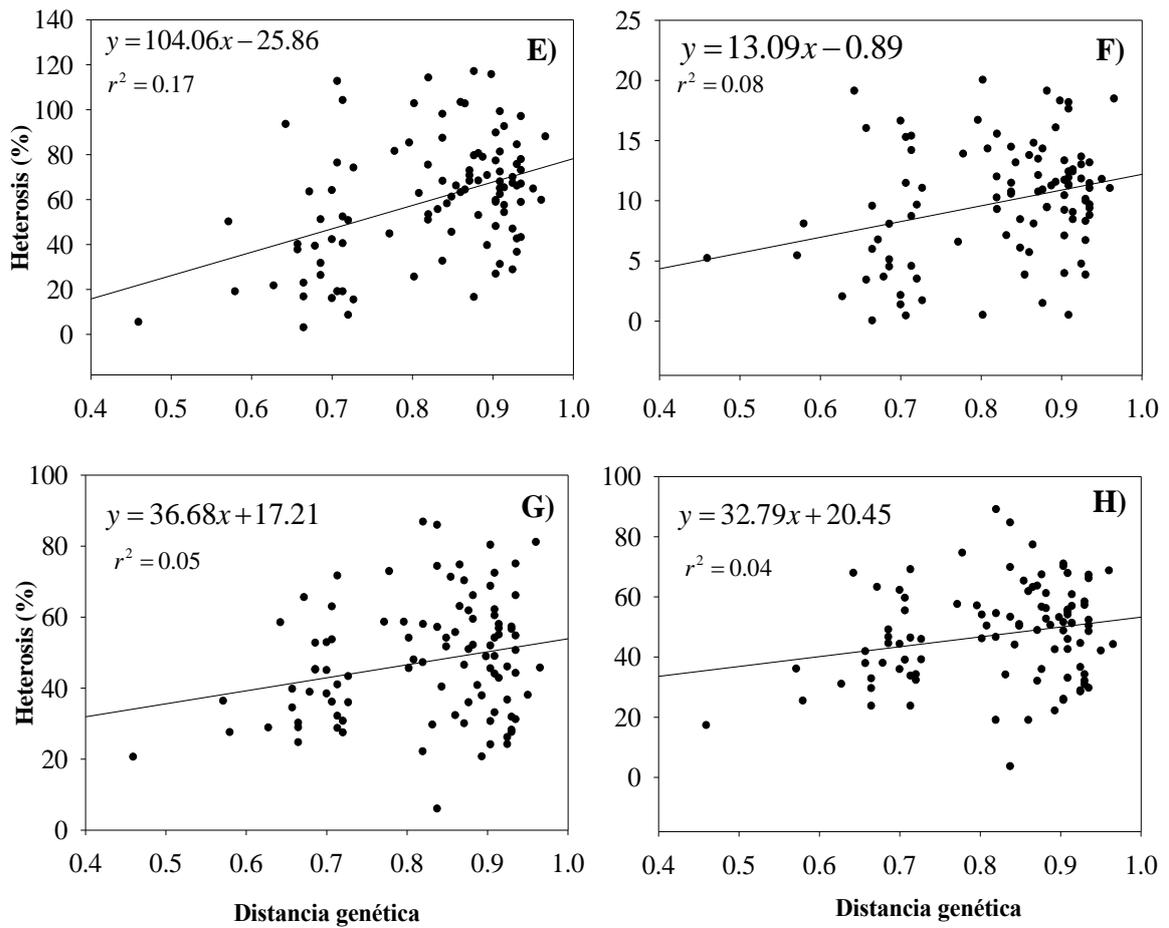


Figura 5. Distancias genéticas vs. Heterosis: E) Diámetro de olote, F) Peso de olote, G) Peso de 100 granos y H) Volumen de 100 granos. Significancia ($P \leq 0.01$).

V.- CONCLUSIONES GENERALES

Mediante el sistema de marcadores usado se tuvo un alto poder de discriminación para la identificación de líneas en grupos heteróticos, de acuerdo con su origen y también se pudo hacer una planificación eficaz de los mejores cruzamientos.

Las distancias genéticas derivadas de marcadores moleculares de secuencias simples repetidas de ADN fueron efectivas como predictores del desempeño de cruza simples de híbridos de maíz, tanto para la variable integradora rendimiento de grano como para sus componentes, pues las cruza con mayor rendimiento observado fueron aquéllas cuya distancia genética tuvo los mayores valores: de 0.838, 0.877, 0.872, 0.966 y 0.930 con 16.8, 16.4, 16.3, 16.2 y 16.0 t ha⁻¹, respectivamente, y las de menor rendimiento fueron aquéllas cuyos progenitores tuvieron distancias genéticas menores.

Sin embargo, al analizar el fenómeno de heterosis en las cruza F₁ con respecto a las distancias genéticas, sólo las variables rendimiento, largo de mazorca, diámetro de mazorca, peso de olote y granos por hilera explicaron del 15 al 21% de la variación total, por lo que se deduce que aunque la divergencia genética es muy necesaria para la existencia de heterosis, no siempre es suficiente para revelar las combinaciones que presenten los niveles más altos.

La información obtenida en el presente estudio no se pueden utilizar directamente para el pronóstico del efecto heterótico de las cruza, ya que por la naturaleza misma del fenómeno, este depende de otros factores y varía dependiendo del carácter en estudio.

VI. LITERATURA CITADA

- Alfaro, J. Y. y V. Segovia S. 2009. Formación, evaluación y descripción del híbrido simple de maíz (*Zea mays* L.) amarillo INIA 21. Revista UDO Agrícola 9: 499-508.
- Allard, R. W. 1999. Principles of Plant Breeding. 2nd. edition. John Wiley and Sons. New York. N.Y. 257 p.
- Aranguren-Méndez, J. A., R. Román-Bravo, W. Isea, Y. Villasmil y J. Jordana. 2005. Los microsatélites (STR's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal 13: 30-42.
- Arnao, E., R. Perdomo y E. Graterol. 2010. Diversidad genética en cultivares de soya utilizando marcadores microsatélites en Venezuela. Interciencia 35: 534-538.
- Barbosa, A. M. M., I. O. Geraldi, L. L. Benchimol, A. A. F. Garcia and C. L. Souza Jr. 2003. Relationship of intra and interpopulation tropical maize single cross hybrid performance and genetic distances computed from AFLP and SSR markers. Euphytica 130: 87-99.
- Bernardo, R. 2001. Breeding potential of intra- and interheterotic group crosses in maize. Crop Science 41: 68-71.
- Birchler, J. A., D. L. Auger and N. C. Riddle. 2003. In search of the molecular basis of heterosis. The Plant Cell 15: 2236-2239.
- Bowcock, A. M., A. Ruiz-Linares, J. Tomfohrde, E. Minch, J. R. Kidd and L. L. Cavalli-Sforza. 1994. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. Nature 368: 455-457.
- Bruel, D. C., V. Carpentieri-Pipolo, A. C. Gerage, N. da Silva F. Jr., C. E. Cavenaghi P., C. de Fátima R., P. M. Ruas, S. G. Hülse de S. and D. D. Garbuglio. 2006. Genetic distance estimated by RAPD markers and its relationship with hybrid performance in maize. Pesquisa Agropecuária Brasileira 41: 1491-1498.
- Cadima, X., S. Veramendi y J. Gabriel. 2013. Uso de marcadores moleculares microsatélite para el análisis de la diversidad genética de papa nativa de Bolivia. Journal of the Selva Andina Research Society 4: 18-30.
- Cargnelutti F., A., N. D. Ribeiro, R. C. P. Reis, J. R. Souza y E. Jost. 2008. Comparação de métodos de agrupamento para o estudo da divergência genética em cultivares de feijão. Ciência Rural Santa Maria 38: 2138-2145.
- Comings, D. E. and J. P. MacMurray. 2000. Molecular heterosis: a review. Molecular Genetics and Metabolism 71: 19-31.
- Chávez A., J. L. 1993. Mejoramiento de Plantas 1. 2a ed. Trillas, S. A. México, D.F. 136 p.

- Chen, Z. J. 2013. Genomic and epigenetic insights into the molecular bases of heterosis. *Nature reviews. Genetics* 14: 471-482.
- Cheng, H. H. and L. B. Crittenden. 1994. Microsatellite markers for genetic mapping in the chicken. *Poultry Science* 73: 539-546.
- Cho, Y. I., C. W. Park, S. W. Kwon, J. H. Chin, H. S. Ji, K. J. Park, S. McCouch and H. J. Koh. 2004. Key DNA markers for predicting heterosis in F₁ hybrids of *japonica* rice. *Breeding Science* 54: 389-397.
- Cress, C. E. 1966. Heterosis of the hybrid related to gene frequency differences between two populations. *Genetics* 53: 269-274.
- Crow, J. F. 1998. 90 years ago: the beginning of hybrid maize. *Genetics* 148: 923-928.
- 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.
- Dudley, J. W., M. A. Saghai Maroof, G. K. Rufener. 1991. Molecular markers and grouping of parents in maize breeding programs. *Crop Science* 91: 718-723.
- Duvick, D. N. 2001. Biotechnology in the 1930s: the development of hybrid maize. *Nature Reviews Genetics* 2: 69-74.
- East, E. M. 1908. Inbreeding in corn. Connecticut Agricultural Experiment Station Bulletin 165:419-428.
- East, E. M. 1936. Heterosis. *Genetics* 21: 375-397.
- Escorcia-Gutiérrez N., J. D. Molina-Galán, F. Castillo-González y J. A. Mejía-Contreras. 2010. Rendimiento, heterosis y depresión endogámica de cruza simples de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana* 33: 271-279.
- Esquivel E., G., F. Castillo G., J. M. Hernández C., A. Santacruz V., G. García de los S., J. A. Acosta G. y A. Ramírez H. 2011. Heterosis de maíz en el altiplano de México con diferente grado de divergencia genética. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3: 331-344.
- Fehr, W. R. 1987. Principles of Cultivar Development. Vol. 1. Theory and Technique. Macmillan Inc. New York. 536 p.
- Fernández, H., F. San Vicente, C. Marín y D. Torrelba. 2006. Determinación de la relación genética entre líneas de maíz usando marcadores SSR. *Agronomía Tropical* 56: 643-650.
- Ferreira, D. F., A. C. de Oliveira, M. X. Dos Santos e M. A. P. Ramalho. 1995. Métodos de avaliação da divergência genética em milho e suas relações com os cruzamentos dialélicos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 30: 1189-1194.

- Flint-Garcia S. A., E. S. Buckler, P. Tiffin, E. Ersoz and N. M. Springer. 2009. Heterosis is prevalent for multiple traits in diverse maize germplasm. PLoS ONE 4: 1-11. DOI: [10.1371/journal.pone.0007433](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007433).
- González, L., A. Hernández y J. Alezones. 2009. Caracterización molecular de líneas tropicales de maíz (*Zea mays* L.) y su relación con los patrones heteróticos. Bioagro 21: 165-172.
- Guo, M., M. A. Rupe, C. Zinselmeier, J. Habben, B. A. Bowen and O. S. Smith. 2004. Allelic variation of gene expression in maize hybrids. The Plant Cell 16 (7): 1707-1716.
- Griffiths, A. J. F., J. H. Miller, D. T. Suzuki, R. C. Lewontin and W. M. Gelbart. 1993. An Introduction to Genetic Analysis. Fifth edition. Freeman, W. H. and Company. New York. 254 p.
- Hallauer A. R., M. J. Carena and J. B. Miranda F. 2010. Quantitative Genetics in Maize Breeding. Springer, New York, USA. 663 p.
- Johnson, T. E. and E. W. Hutchinson. 1993. Absence of strong heterosis for life span and other life history traits in *Caenorhabditis elegans*. Genetics 134: 465-474.
- Jones, A. G., S. Ostlund-Nilsson and J. C. Avise. 1998. A microsatellite assessment of sneaked fertilizations and eggs thie very in the fifteen-spine stickle-back. Evolution 52: 848-858.
- Karp, A., S. Kresovich, K. V. Bhat, W. G. Ayad and T. Hodgkin. 1997. Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies. IPGRI Technical Bulletin No. 2 International Plant Genetic Resources Institute. Rome, Italy. 47 p.
- Lagercrantz, U., H. Ellegren and L. Andersson. 1993. The abundance of various polymorphic microsatellite motifs differs between plants and vertebrates. Nucleic Acids Research 21: 1111-1115.
- Larièpe, A, B. Mangin, S. Jasson, V. Combes, F. Dumas, P. Jamin, C. Lariagon, D. Jolivot, D. Madur, J. Fiévet, A. Gallais, P. Dubreuil, A. Charcosset and L. Moreau. 2012. The genetic basis of heterosis: multiparental quantitative trait loci mapping reveals contrasted levels of apparent overdominance among traits of agronomical interest in Maize (*Zea mays* L.). Genetics 190: 795–811.
- Lee, M., E. B. Godshalk, K. R. Lamkey and W. W. Woodman. 1989. Association of restriction fragment length polymorphisms among maize inbreds with agronomic performance of their crosses. Crop Science 29: 1067-1071.
- Liu, X., K. Ishiki and W. Wang. 2002. Identification of AFLP markers favorable to heterosis in hybrid rice. Breeding Science 52: 201-206.
- Márquez S., F. 1988. Genotecnia Vegetal. Tomo II. Métodos, Teoría y Resultados. AGT Editor. México, D.F. 665 p.

- Melchinger, A. E. 1999. Genetic diversity and heterosis. *In: The Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops*. Coors, J. G. and S. Pandey (eds). American Society of Agronomy. Crop Science Society of America. Madison, Wisconsin. pp: 99-118.
- Mirshamsi, A., M. Farsi, F. Shahriari and H. Nemati. 2008. Use of random amplified polymorphic DNA markers to estimate heterosis and combining ability in tomato hybrids. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 11: 499-507.
- Mladenović Drinić S., M. Kostadinović, D. Ristić, M. Stevanovic, Z. Čamdžija, M. Filipović and D. Kovačević. 2012. Correlation of yield and heterosis of maize hybrids and their parental lines with genetic distance based on SSR markers. *Genetika* 44: 399-408.
- Muñoz O., A. 2003. Centli Maíz. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México. 211 p.
- Oliboni R., M. Ventura F., M. Neumann, G. Mendes B., R. Gallo T. and J. T. Vilela R. 2012. Genetic divergence among maize hybrids and correlations with heterosis and combining ability. *Maringá* 34: 37-44.
- Pajić, Z., U. Erić, S. Mladenović Drinić, J. Srdić, M. Filipović. 2010. Genetic divergence estimated by RAPD markers and its relationship with hybrid performance in popcorn. *Cereal Research Communications* 38: 184-192.
- Paterniani, M. E., A. G. Z. P.S. Guimarães, R. R. Lüders, P. B. Gallo, A. P. de Souza, P. R. Laborda e K. M. Oliveira. 2008. Capacidade combinatória, divergência genética entre linhagens de milho e correlação com heterose. *Bragantia Campinas* 67: 639-648.
- Pérez-López F. J., R. Lobato-Ortiz, J. J. García-Zavala, J. D. Molina-Galán, J. J. López-Reynoso y T. Cervantes-Santana^(†). 2014. Líneas homocigóticas de maíz de alto rendimiento como progenitoras de híbridos de cruce simple. *Agrociencia*. Vol. 48 (4): 425-437.
- Phillips-Mora, W., H. Rodríguez R. and P. J. Fritz. 1995. Marcadores de ADN: Teoría, aplicaciones y protocolos de trabajo. Con ejemplos de investigaciones en cacao (*Theobroma cacao*). Serie Técnica. Informe Técnico No. 252. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 183 p.
- Ponsuksili, S., K. Wimmers, F. Schmoll, P. Horst and K. Schellander. 1999. Comparison of multilocus DNA fingerprints and microsatellites in an estimate of genetic distance in chicken. *Journal of Heredity* 90: 656-659.
- Ramírez D., J. L., M. Chuela B., V. A. Vidal M., J. Ron P. y F. Caballero H. 2007. Propuesta para formar híbridos de maíz combinando patrones heteróticos. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30: 453-461.
- Rohlf, F. J. 2009. NTSYSpc: Numerical Taxonomy System. ver. 2.21c. Exeter Software: Setauket: New York.

- Romero, C. A., J. A. Bonilla, E. G. Santos y E. L. Peralta. 2010. Identificación varietal de 41 plantas seleccionadas de cacao (*Theobroma cacao* L.) provenientes de cuatro cultivares distintos de la región amazónica ecuatoriana, mediante el uso de marcadores microsatélites. *Revista Tecnológica ESPOL-RTE* 23: 121-128.
- Samphantarak, K. 2003. *Plant breeding*. 1st ed. Kasetsart Bangkok. p. 66-91.
- SAS Institute. 2003. *SAS/IML Software: Usage and reference*. Versión 9.1. 1st. ed. SAS Institute Inc., Cary, N.C.
- 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
- Song, R. and J. Messing. 2003. Gene expression of a gene family in maize based on non collinear haplotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 100: 9055-9060.
- Shieh G. J. and F. S. Thseng. 2002. Genetic diversity of Tainan-white maize inbred lines and prediction of single cross hybrid performance using RAPD markers. *Euphytica* 124: 307-313.
- Shull, G. H. 1908. The composition of a field of maize. *American Breeders Association Report* 4: 296–301.
- Shull, G. H. 1909. A pure-line method of corn breeding. *American Breeders Association Report*. 5: 51–59.
- Shull, G. H. 1910. Hybridization methods in corn breeding. *American Breeders Magazine* 1: 98-107.
- Shull, G. H. 1914. Duplicate genes for capsule-form in *Bursa pastoris*. *Zeitschrift ind. Abst. u. Vererbung* 12: 97–149.
- Shull, G. H. 1948. What is heterosis?. *Genetics* 33: 439-446.
- Smith, O. S., J. S. C. Smith, S. L. Bowen, R. A. Tenborg and S. J. Wall. 1990. Similarities among a group of elite maize inbreds as measured by pedigree, F₁ grain yield, grain yield, heterosis, and RFLPs. *Theoretical and Applied Genetics* 80: 833-840.
- Srdić J., S. Mladenović Drinić, Z. Pajić and M. Filipović. 2007. Characterization of maize inbred lines based on molecular markers, heterosis and pedigree data. *Genetika* 39: 355-363.
- Tanksley, S. D. 1993. Mapping polygenes. *Annual Review of Genetics* 27: 205-233.
- Valadez M., E. y G. Kahl. 2000. *Huellas de ADN en Genomas de Plantas*. Mundi Prens. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México. 168 p.

- Veitia, R. A. and D. Vaiman. 2011. Exploring the mechanistic bases of heterosis from the perspective of macromolecular complexes. *The FASEB Journal* 25: 476–482.
- Wallace, H. A. and W. L. Brown. 1988. *Corn and Its Early Fathers*. Revised Edition. Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. 141 p.
- Warburton M. L., X. Xianchun, J. Crossa, J. Franco, A. E. Melchinger, M. Frisch, M. Bohn and D. Hoisington. 2002. Genetic characterization of CIMMYT inbred maize lines and open pollinated populations using large scale finger printing methods. *Crop Science* 42: 1832-1840.
- Williams, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18: 6531-6535.
- Wright, S. 1965. Interpretation of population structure by F- statistics with special regard to system of mating. *Evolution* 19: 395-420.
- Wright, S. 1978. *Evolution and the Genetics of Populations*. Vol. 4. Variability within and among Natural Populations. University of Chicago Press. Chicago, IL. 590 p.
- Wu, K. S., and S. D. Tanksley. 1993. Genetic and physical mapping of telomers and macrosatellites of rice. *Plant Molecular Biology* 22: 861–872.
- Xiao J., J. Li, L. Yuan and S. D. Tanksley. 1995. Dominance is the major genetic basis of heterosis in rice as revealed by QTL analysis using molecular markers. *Genetics* 140: 745-754.

ANEXOS

Cuadro 1A. Distancias genéticas modificadas de Rogers entre las líneas de este estudio.

	FA01	FA02	FA03	FA04	FA05	FA06	FA07	FA09	FA10	FA11	FA12	FA13	FA14	FA15	FA16	FA17	FA18	FA19	FA20	FA21	FA22	
FA01	0.000																					
FA02	0.930	0.000																				
FA03	0.820	0.772	0.000																			
FA04	0.877	0.866	0.665	0.000																		
FA05	0.760	0.809	0.572	0.785	0.000																	
FA06	0.849	0.803	0.893	0.826	0.826	0.000																
FA07	0.838	0.849	0.686	0.838	0.658	0.855	0.000															
FA09	0.861	0.826	0.861	0.838	0.815	0.721	0.877	0.000														
FA10	0.832	0.866	0.707	0.820	0.665	0.861	0.427	0.872	0.000													
FA11	0.809	0.772	0.826	0.935	0.803	0.855	0.855	0.844	0.872	0.000												
FA12	0.915	0.778	0.844	0.826	0.849	0.734	0.893	0.820	0.899	0.899	0.000											
FA13	0.747	0.815	0.855	0.909	0.734	0.753	0.820	0.820	0.809	0.815	0.849	0.000										
FA14	0.809	0.866	0.679	0.832	0.772	0.915	0.838	0.826	0.832	0.778	0.872	0.866	0.000									
FA15	0.826	0.740	0.797	0.872	0.778	0.820	0.849	0.832	0.866	0.832	0.766	0.766	0.826	0.000								
FA16	0.866	0.721	0.778	0.772	0.760	0.700	0.809	0.826	0.815	0.803	0.766	0.766	0.797	0.772	0.000							
FA17	0.904	0.815	0.866	0.935	0.861	0.832	0.872	0.888	0.866	0.855	0.785	0.861	0.915	0.686	0.826	0.000						
FA18	0.888	0.832	0.861	0.797	0.866	0.778	0.866	0.893	0.872	0.849	0.766	0.844	0.866	0.785	0.679	0.826	0.000					
FA19	0.855	0.866	0.844	0.909	0.872	0.893	0.849	0.838	0.849	0.855	0.826	0.809	0.855	0.893	0.877	0.849	0.820	0.000				
FA20	0.838	0.753	0.838	0.826	0.791	0.797	0.772	0.760	0.778	0.832	0.888	0.803	0.861	0.809	0.672	0.855	0.740	0.820	0.000			
FA21	0.866	0.797	0.820	0.832	0.820	0.766	0.883	0.766	0.888	0.872	0.803	0.747	0.866	0.766	0.820	0.815	0.785	0.791	0.803	0.000		
FA22	0.826	0.766	0.849	0.872	0.791	0.772	0.855	0.803	0.849	0.820	0.707	0.679	0.849	0.636	0.753	0.760	0.753	0.838	0.734	0.727	0.000	

Cuadro 1A.

	FA01	FA02	FA03	FA04	FA05	FA06	FA07	FA09	FA10	FA11	FA12	FA13	FA14	FA15	FA16	FA17	FA18	FA19	FA20	FA21	FA22
FA23	0.820	0.888	0.877	0.961	0.866	0.935	0.815	0.883	0.844	0.815	0.872	0.832	0.855	0.872	0.888	0.915	0.877	0.721	0.849	0.844	0.849
FA24	0.826	0.832	0.803	0.815	0.753	0.679	0.734	0.760	0.740	0.866	0.734	0.791	0.849	0.734	0.766	0.797	0.753	0.855	0.721	0.740	0.665
FA25	0.785	0.809	0.855	0.832	0.747	0.753	0.766	0.714	0.760	0.883	0.753	0.760	0.832	0.740	0.797	0.872	0.772	0.844	0.686	0.760	0.740
FA27	0.643	0.893	0.883	0.935	0.872	0.888	0.832	0.855	0.826	0.772	0.930	0.791	0.803	0.832	0.925	0.844	0.925	0.803	0.855	0.893	0.820
FA28	0.877	0.877	0.778	0.877	0.760	0.904	0.877	0.904	0.861	0.893	0.915	0.809	0.888	0.832	0.877	0.893	0.820	0.844	0.872	0.844	0.826
FA29	0.803	0.838	0.665	0.791	0.700	0.855	0.760	0.826	0.714	0.838	0.883	0.778	0.686	0.791	0.820	0.861	0.888	0.838		0.753	0.809
FA30	0.605	0.909	0.866	0.920	0.855	0.849	0.861	0.861	0.855	0.815	0.893	0.785	0.855	0.791	0.899	0.849	0.866	0.809	0.815	0.832	0.753
FA31	0.838	0.893	0.893	0.966	0.877	0.930	0.899	0.899	0.893	0.760	0.930	0.838	0.849	0.899	0.904	0.888	0.904	0.861	0.920	0.935	0.888
FA32	0.460	0.909	0.809	0.877	0.760	0.838	0.826	0.883	0.832	0.766	0.904	0.791	0.855	0.838	0.877	0.849	0.877	0.861	0.849	0.866	0.778
FA33	0.849	0.883	0.815	0.893	0.753	0.909	0.721	0.866	0.714	0.866	0.861	0.791	0.803	0.838	0.866	0.883	0.899	0.727	0.877	0.872	0.888
MA01	0.877	0.820	0.899	0.899	0.888	0.893	0.883	0.849	0.899	0.893	0.849	0.877	0.877	0.872	0.920	0.893	0.820	0.760	0.766	0.785	0.778
MA02	0.866	0.772	0.803	0.877	0.772	0.872	0.832	0.872	0.849	0.815	0.815	0.693	0.820	0.760	0.707	0.838	0.747	0.861	0.791	0.785	0.727
MA03	0.826	0.826	0.872	0.883	0.809	0.832	0.797	0.855	0.838	0.877	0.855	0.815	0.893	0.797	0.803	0.797	0.778	0.832	0.747	0.791	0.760
MA04	0.909	0.820	0.899	0.877	0.888	0.714	0.915	0.815	0.920	0.861	0.753	0.809	0.899	0.740	0.772	0.766	0.707	0.866	0.815	0.721	0.628
MA05	0.803	0.803	0.700	0.838	0.803	0.877	0.820	0.844	0.826	0.820	0.899	0.826	0.740	0.809	0.826	0.820	0.838	0.693	0.785	0.785	0.797
MA06	0.838	0.832	0.815	0.826	0.803	0.832	0.866	0.785	0.826	0.930	0.785	0.826	0.893	0.832	0.893	0.797	0.872	0.809	0.866	0.838	0.797
A1	0.844	0.866	0.747	0.785	0.760	0.861	0.849	0.778	0.820	0.904	0.815	0.820	0.832	0.861	0.844	0.872	0.877	0.753	0.826	0.797	0.849
A2	0.844	0.866	0.747	0.809	0.760	0.883	0.849	0.803	0.820	0.904	0.838	0.820	0.832	0.861	0.844	0.872	0.899	0.778	0.872	0.820	0.872
A3	0.883	0.826	0.838	0.872	0.766	0.832	0.844	0.760	0.849	0.820	0.797	0.766	0.883	0.797	0.826	0.877	0.838	0.785	0.785	0.714	0.734
A4	0.838	0.872	0.849	0.778	0.838	0.785	0.877	0.832	0.883	0.877	0.832	0.826	0.915	0.855	0.838	0.909	0.872	0.904	0.844	0.740	0.820
A5	0.877	0.909	0.797	0.866	0.820	0.925	0.826	0.893	0.809	0.915	0.877	0.820	0.855	0.844	0.872	0.820	0.849	0.803	0.849	0.844	0.893

Cuadro 1A.

	FA23	FA24	FA25	FA27	FA28	FA29	FA30	FA31	FA32	FA33	MA01	MA02	MA03	MA04	MA05	MA06	A1	A2	A3	A4	A5	
FA23	0.000																					
FA24	0.883	0.000																				
FA25	0.832	0.580	0.000																			
FA27	0.826	0.820	0.826	0.000																		
FA28	0.866	0.925	0.888	0.861	0.000																	
FA29	0.861	0.832	0.849	0.809	0.797	0.000																
FA30	0.809	0.714	0.785	0.580	0.866	0.838	0.000															
FA31	0.849	0.909	0.935	0.772	0.925	0.888	0.826	0.000														
FA32	0.785	0.791	0.809	0.700	0.877	0.826	0.636	0.797	0.000													
FA33	0.872	0.866	0.803	0.820	0.855	0.772	0.872	0.909	0.883	0.000												
MA01	0.760	0.791	0.785	0.893	0.844	0.861	0.832	0.915	0.855	0.872	0.000											
MA02	0.785	0.849	0.844	0.883	0.760	0.855	0.866	0.838	0.844	0.877	0.866	0.000										
MA03	0.714	0.772	0.727	0.866	0.832	0.844	0.826	0.909	0.766	0.866	0.628	0.766	0.000									
MA04	0.899	0.714	0.797	0.883	0.866	0.883	0.844	0.904	0.877	0.925	0.772	0.760	0.803	0.000								
MA05	0.753	0.877	0.861	0.797	0.766	0.772	0.803	0.866	0.766	0.832	0.791	0.815	0.714	0.844	0.000							
MA06	0.883	0.760	0.826	0.797	0.838	0.809	0.791	0.826	0.803	0.832	0.826	0.820	0.855	0.803	0.747	0.000						
A1	0.888	0.815	0.809	0.849	0.832	0.803	0.855	0.872	0.855	0.778	0.899	0.809	0.920	0.877	0.753	0.580	0.000					
A2	0.909	0.838	0.832	0.849	0.855	0.803	0.855	0.872	0.855	0.778	0.941	0.809	0.920	0.899	0.700	0.580	0.340	0.000				
A3	0.849	0.785	0.766	0.877	0.826	0.855	0.883	0.899	0.893	0.809	0.815	0.714	0.844	0.753	0.855	0.797	0.672	0.700	0.000			
A4	0.904	0.734	0.753	0.866	0.904	0.866	0.849	0.951	0.861	0.909	0.872	0.872	0.832	0.803	0.899	0.920	0.838	0.838	0.772	0.000		
A5	0.909	0.861	0.855	0.849	0.883	0.815	0.832	0.893	0.899	0.658	0.899	0.849	0.849	0.899	0.791	0.778	0.772	0.747	0.826	0.838	0.000	

Cuadro 2A.- Cruzas entre las líneas más y menos divergentes y su distancia genética.

25 Mas Divergentes			25 Menos Divergentes		
FA31	FA04	0.966	FA24	FA06	0.679
FA23	FA04	0.961	FA22	FA13	0.679
A4	FA32	0.951	FA18	FA16	0.679
A2	MA01	0.941	FA20	FA16	0.672
FA11	FA04	0.935	A3	A1	0.672
FA17	FA04	0.935	FA04	FA03	0.665
FA27	FA04	0.935	FA29	FA03	0.665
FA23	FA06	0.935	FA10	FA05	0.665
FA31	FA21	0.935	FA24	FA22	0.665
FA31	FA25	0.935	FA07	FA05	0.658
FA02	FA01	0.930	A5	FA33	0.658
FA31	FA06	0.930	FA27	FA01	0.643
MA06	FA11	0.930	FA22	FA15	0.636
FA27	FA12	0.930	FA32	FA30	0.636
FA31	FA12	0.930	MA04	FA22	0.628
A5	FA06	0.925	MA03	MA01	0.628
FA27	FA16	0.925	FA30	FA01	0.605
FA27	FA18	0.925	FA25	FA24	0.580
FA28	FA24	0.925	FA30	FA27	0.580
FA31	FA28	0.925	A1	MA06	0.580
MA04	FA33	0.925	A2	MA06	0.580
FA30	FA04	0.920	FA05	FA03	0.572
MA04	FA10	0.920	FA32	FA01	0.460
MA01	FA16	0.920	FA10	FA07	0.427
FA31	FA20	0.920	A2	A1	0.340

Cuadro 3A. Comparación de medias de híbridos con la prueba de Tukey (0.05) para rendimiento y heterosis.

Cruza	L1	L2	Rend (t ha ⁻¹)	Distancia	Heterosis	Agrupamiento
72	A4	A5	16.849	0.838	346	A
1	FA15	A1	16.573	.	.	A B
49	FA07	A4	16.478	0.877	292	A B C
46	FA04	A3	16.326	0.872	339	A B C D
13	FA31	FA04	16.269	0.966	330	A B C D E
70	MA06	FA11	16.028	0.930	209	A B C D E F
38	Testigo	Testigo	15.875	.	.	A B C D E F
35	FA31	A5	15.82	0.893	336	A B C D E F
45	FA29	MA01	15.797	0.861	219	A B C D E F
37	FA03	A3	15.772	0.838	311	A B C D E F G
47	FA29	A3	15.753	0.855	240	A B C D E F G
42	FA05	MA01	15.74	0.888	204	A B C D E F G H
54	FA31	A4	15.653	0.951	253	A B C D E F G H I
40	Testigo Garañon	Testigo Garañon	15.601	.	.	A B C D E F G H I
67	FA21	FA31	15.502	0.935	321	A B C D E F G H I
9	FA11	FA04	15.321	0.935	295	A B C D E F G H I
109	FA03	FA01	15.299	0.820	394	A B C D E F G H I
10	FA19	FA04	15.297	0.909	395	A B C D E F G H I
68	FA24	FA31	15.242	0.909	250	A B C D E F G H I J
33	FA21	A5	15.192	0.844	402	A B C D E F G H I J K
58	A2	FA15	15.127	0.861	298	A B C D E F G H I J K L
110	FA03	A5	15.07	0.797	370	A B C D E F G H I J K L
8	FA13	FA04	15.013	0.909	505	A B C D E F G H I J K L M
51	FA29	A4	14.974	0.866	214	A B C D E F G H I J K L M N
7	FA12	MA01	14.956	0.849	321	A B C D E F G H I J K L M N
26	FA09	A5	14.765	0.893	281	A B C D E F G H I J K L M N O
61	FA06	FA28	14.724	0.904	415	A B C D E F G H I J K L M N O

Cruza	L1	L2	Rend (t ha ⁻¹)	Distancia	Heterosis	Agrupamiento
29	FA13	A5	14.619	0.820	552	A B C D E F G H I J K L M N O P
27	FA10	A5	14.613	0.809	311	A B C D E F G H I J K L M N O P
69	FA25	FA31	14.593	0.935	228	A B C D E F G H I J K L M N O P
55	FA19	A4	14.558	0.904	322	A B C D E F G H I J K L M N O P
16	FA06	FA31	14.499	0.930	335	A B C D E F G H I J K L M N O P
56	FA07	A2	14.454	0.849	333	A B C D E F G H I J K L M N O P
39	Testigo Cimarrón	Testigo Cimarrón	14.424	.	.	A B C D E F G H I J K L M N O P
25	FA06	A5	14.391	0.925	423	A B C D E F G H I J K L M N O P
24	FA02	A5	14.309	0.909	387	A B C D E F G H I J K L M N O P
48	FA04	A4	14.248	0.778	304	A B C D E F G H I J K L M N O P
3	FA03	FA10	14.167	0.707	256	A B C D E F G H I J K L M N O P
65	FA31	FA28	14.116	0.925	294	A B C D E F G H I J K L M N O P
53	FA23	A4	14.079	0.904	222	A B C D E F G H I J K L M N O P
11	FA23	FA04	14.065	0.961	311	A B C D E F G H I J K L M N O P
12	FA27	FA04	14.035	0.935	283	A B C D E F G H I J K L M N O P
32	FA19	A5	14.022	0.803	347	A B C D E F G H I J K L M N O P
19	FA02	FA01	14.021	0.930	349	A B C D E F G H I J K L M N O P
36	FA28	A5	13.949	0.883	361	A B C D E F G H I J K L M N O P
41	FA03	MA01	13.896	0.899	221	A B C D E F G H I J K L M N O P
44	FA18	MA01	13.869	0.820	211	A B C D E F G H I J K L M N O P
43	FA15	MA01	13.764	0.872	171	B C D E F G H I J K L M N O P
64	FA28	FA24	13.733	0.925	246	B C D E F G H I J K L M N O P
80	FA10	FA03	13.677	0.707	303	B C D E F G H I J K L M N O P
21	FA12	FA01	13.659	0.915	376	B C D E F G H I J K L M N O P Q
23	FA02	FA32	13.655	0.909	313	B C D E F G H I J K L M N O P Q
28	FA11	A5	13.617	0.915	282	B C D E F G H I J K L M N O P Q
17	FA14	FA06	13.602	0.915	353	B C D E F G H I J K L M N O P Q R
15	FA06	FA23	13.485	0.935	338	C D E F G H I J K L M N O P Q R S

Cruza	L1	L2	Rend (t ha ⁻¹)	Distancia	Heterosis	Agrupamiento
57	FA11	A2	13.421	0.904	226	D E F G H I J K L M N O P Q R S
34	FA23	A5	13.328	0.909	278	D E F G H I J K L M N O P Q R S
66	FA12	FA31	13.31	0.930	306	D E F G H I J K L M N O P Q R S
81	FA10	FA22	13.27	0.427	258	E F G H I J K L M N O P Q R S
2	Testigo	Testigo	13.242	.	.	E F G H I J K L M N O P Q R S
62	FA09	FA28	13.239	0.904	190	E F G H I J K L M N O P Q R S
20	FA01	FA21	13.238	0.866	340	E F G H I J K L M N O P Q R S
18	MA01	FA01	13.125	0.877	185	F G H I J K L M N O P Q R S T
86	FA20	FA16	12.725	0.672	538	G H I J K L M N O P Q R S T U
73	A3	FA01	12.697	0.883	247	H I J K L M N O P Q R S T U
74	A4	MA05	12.643	.	.	I J K L M N O P Q R S T U
106	A3	A4	12.206	0.772	154	J K L M N O P Q R S T U V
101	FA23	MA03	12.178	0.714	204	K L M N O P Q R S T U V W
90	FA27	FA01	12.175	0.643	269	K L M N O P Q R S T U V W
6	FA01	A4	12.146	0.838	282	K L M N O P Q R S T U V W
91	FA27	FA32	12.111	0.700	243	L M N O P Q R S T U V W
30	FA16	A5	11.997	0.872	526	M N O P Q R S T U V W
4	FA01	A3	11.954	0.883	292	N O P Q R S T U V W
22	FA01	FA17	11.752	0.904	364	O P Q R S T U V W X
71	Testigo	Testigo	11.649	.	.	P Q R S T U V W X
50	FA11	A4	10.61	0.877	125	Q R S T U V W X Y
107	FA05	FA03	10.563	0.572	155	R S T U V W X Y
83	FA14	FA03	10.458	0.679	243	S T U V W X Y
84	FA16	FA06	10.455	0.700	466	S T U V W X Y
14	FA04	FA17	10.44	0.935	366	S T U V W X Y
79	FA05	FA29	10.109	0.700	136	T U V W X Y
100	FA22	MA02	9.937	.	.	U V W X Y Z
63	FA12	FA28	9.867	0.915	283	A U V W X Y Z
31	FA17	A5	9.792	0.820	341	A U V W X Y Z

Cruza	L1	L2	Rend (t ha ⁻¹)	Distancia	Heterosis	Agrupamiento	
105	MA04	FA06	9.791	0.714	137	A	U V W X Y Z
78	FA05	FA07	9.508	0.658	151	A B	V W X Y Z
75	FA03	FA07	9.359	0.686	234	A B	V W X Y Z
52	A4	FA17	9.286	0.909	189	A B C	V W X Y Z
98	FA09	FA25	9.237	0.714	79	A B C D	V W X Y Z
85	FA16	MA02	9.141	.	.	A B C D	W X Y Z
60	FA16	FA27	8.742	0.925	198	A B C D E	X Y Z
59	FA12	FA27	8.396	0.930	143	A B C D E F	Y Z
97	FA09	FA06	8.282	0.721	123	A B C D E F	Y Z
104	A3	FA21	8.219	0.714	212	A B C D E F	Y Z
92	FA17	FA15	8.012	0.686	185	A B C D E F	Y Z
99	FA22	FA21	7.763	0.727	253	A B C D E F G	Y Z
108	FA02	FA06	7.058	0.803	217	A B C D E F G	Z
88	FA25	FA20	6.844	0.686	78	A B C D E F G H	
94	FA33	A5	6.639	0.658	199	B C D E F G H	
87	FA22	FA24	6.563	0.665	114	B C D E F G H I	
103	FA25	MA03	6.276	0.727	64	C D E F G H I	
102	FA24	FA20	6.216	0.721	56	D E F G H I	
82	FA12	FA22	6.023	0.707	237	E F G H I J	
5	FA01	FA10	5.983	0.832	97	E F G H I J	
89	FA25	FA24	5.488	0.580	19	F G H I J	
76	FA03	FA29	5.418	0.665	65	F G H I J	
95	MA04	FA22	4.823	0.628	46	G H I J	
111	FA31	FA01	3.855	0.838	18	H I J	
77	FA03	FA04	.	0.665	2		J
93	FA32	FA01	.	0.460	28		I J
96	MA05	A2	.	.	.		H I J

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales.