



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO  
POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

**GENÉTICA**

**RENDIMIENTO DE CRUZAS SIMPLES DE LÍNEAS  
DE MAÍZ DE ACG CONTRASTANTE Y SU  
PREDICCIÓN MEDIANTE SNPs**

MARCELINA VÉLEZ TORRES

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2015

La presente tesis titulada: **“RENDIMIENTO DE CRUZAS SIMPLES DE LÍNEAS DE MAÍZ DE ACG CONTRASTANTE Y SU PREDICCIÓN MEDIANTE SNPs”** realizada por la alumna: **MARCELINA VÉLEZ TORRES**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS  
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
GENÉTICA

**CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERO:



DR. J. JESÚS GARCÍA ZAVALA

ASESOR:



DR. RICARDO LOBATO ORTIZ

ASESOR:



DR. J. JESÚS LÓPEZ REYNOSO

ASESOR:



DR. IGNACIO BENÍTEZ RIQUELME

ASESOR:



DR. J. APOLINAR MEJÍA CONTRERAS

Montecillo, Texcoco, Estado de México. Marzo 2015.

**RENDIMIENTO DE CRUZAS SIMPLES DE LÍNEAS DE MAÍZ  
DE ACG CONTRASTANTE Y SU PREDICCIÓN MEDIANTE SNPs**

**Marcelina Vélez Torres, Dra.**

**Colegio de Postgraduados, 2015**

En la generación de híbridos de maíz (*Zea mays* L.), la información sobre el rendimiento de cruzas simples posibles entre  $n$  líneas es fundamental para identificar las combinaciones con alto potencial genético y prescindir de la evaluación de enormes cantidades de genotipos; por lo tanto, el mejoramiento genético clásico y la Selección Genómica (SG) deberían asociarse y así acelerar los programas de hibridación de maíz en México. El objetivo de este trabajo fue evaluar el comportamiento y estabilidad del rendimiento de cruzas simples de líneas de maíz contrastantes en aptitud combinatoria general (ACG) mediante metodologías tradicionales de mejoramiento, y también evaluar la metodología de SG para la predicción de la ACG de líneas autofecundadas de maíz y del rendimiento de sus cruzas simples, a fin de proveer elementos y alternativas para el mejoramiento rápido y eficiente de esta característica cuantitativa. La metodología convencional de evaluación en campo mostró que la mayoría de las cruzas simples de Alta  $\times$  Baja ACG fueron las más rendidoras pero inestables; en este resultado interactuaron: acumulación de efectos aditivos, presencia de efectos de dominancia y epistasis, divergencia genética entre líneas, adaptación y adaptabilidad de la craza, la ACG contrastante de sus líneas progenitoras y la interacción del genotipo con el ambiente. En la metodología de predicción genómica, el uso del GBS (Genotyping-By-Sequencing) SNPs (Polimorfismos de Nucleótido Simple) de los genotipos, mostró ser altamente eficiente para clasificar a las líneas progenitoras como de alta o baja ACG con base en sus diferencias a nivel molecular, esto permitió corroborar la ACG de cada una de ellas, la cual se conocía previamente mediante la prueba de mestizos. Asimismo, el GBS, la cercanía de las relaciones genéticas entre las líneas y los componentes del modelo de predicción genómica utilizado; fueron factores que contribuyeron a la precisión efectiva de la predicción del rendimiento de las cruzas evaluadas y no evaluadas en campo; esto pese a que el modelo no incluyó el componente de interacción Genotipo  $\times$  Ambiente, a la baja heredabilidad del rendimiento, y a la baja endogamia de la mayoría de las líneas progenitoras.

**Palabras clave:** *Zea mays* L., estabilidad, adaptabilidad, Selección Genómica, GBS SNPs.

# **YIELD PERFORMANCE OF SINGLE CROSSES AMONG INBRED LINES OF MAIZE CONTRASTING IN GCA AND ITS PREDICTION BY SNPs**

**Marcelina Vélez Torres, Dra.**

**Colegio de Postgraduados, 2015**

Hybrid maize (*Zea mays* L.) breeding requires information on the yield performance of all possible single crosses between  $n$  lines to identify the combinations with the highest genetic potential, this is in order to leave aside the evaluation of huge amounts of genotypes. Therefore, both classical breeding and genomic selection should be associated to accelerate maize breeding programs in Mexico. The aim of this study was to evaluate the performance and yield stability of single crosses of maize among lines contrasting in general combining ability (GCA) through traditional breeding methodologies and also to evaluate the methodology of GS to predict the GCA of inbred lines of maize and the yield of their single crosses, this in order to provide elements and alternatives to achieve a fast and an efficient genetic improvement of this quantitative trait. Phenotypic evaluation in the field showed that most of the single crosses of type High  $\times$  Low GCA were the most yielding ones though unstable. This result was mainly due to the interaction of factors such as accumulation of additive effects, presence of dominance and epistasis effects, genetic divergence between the inbred lines, adaptation and adaptability of the crosses, the contrasting GCA of their parental lines, and the genotype by environment interaction. The use of the GBS (Genotyping-By-Sequencing) SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) procedure in the genomic prediction methodology proved to be highly efficient to classify the parental lines as being of high or low GCA, based on their differences at the molecular level. This corroborated the GCA of each of the lines, which was previously known by the top-cross testing. Also, the GBS procedure, the closeness of the genetic relationships between the lines, and the components of the genomic prediction model used were factors that contributed to the effective accuracy of the yield prediction of the crosses, both evaluated and unevaluated at field; this despite the fact that the model did not include the Genotype  $\times$  Environment component, the low heritability of the yield, and the low inbreeding in most of the parental lines.

Keywords: *Zea mays* L., stability, adaptability, Genomic Selection, GBS SNPs.

## AGRADECIMIENTOS

Al pueblo de México.

Al Consejo Nacional de Ciencia y tecnología (CONACYT), por el financiamiento otorgado.

Al Colegio de Postgraduados, por la oportunidad de realizar mis estudios.

Al Dr. J. Jesús García Zavala, por su dirección y consejos a lo largo de mi programa de doctorado.

A mis asesores: Dr. Ricardo Lobato Ortiz, Dr. J. Jesús López Reynoso, Dr. Ignacio Benitez Riquelme, Dr. J. Apolinar Mejía Contreras. Por sus aportaciones para el enriquecimiento de mi investigación y de mi programa académico.

A quienes colaboraron de forma esencial para el logro de la presente investigación: Dr. José D. Molina Galán, Dr. Paulino Pérez Rodríguez, Dra. Martha Hernández Rodríguez, Dr. Xuecai Zhang, y Dr. Gilberto Esquivel Esquivel.

Al personal de campo del COLPOS Montecillo e INIFAP Santa Lucía y al de Laboratorio de Biotecnología del CIMMYT, por su apoyo en los experimentos de mi tesis doctoral.

Al Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) e Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) por el apoyo otorgado.

A mi familia, a mis profesores, amigos, y a todas aquellas personas que en cierto momento estuvieron en mi vida durante los años de mis estudios de doctorado; no escribiré nombres porque el espacio que tengo aquí no me alcanzaría. He sido muy afortunada porque el día que sentí necesitar tanto a Dios, lo encontré en gente tan grande a la que solo puedo decirle “muchas gracias”.

*Dedicada a la personita que Dios puso en mi camino para dar fortaleza a mi vida:*

*“Mi adorada Alondrita”*

## CONTENIDO

	Página
<b>CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL</b> -----	1
OBJETIVOS -----	12
HIPÓTESIS -----	12
BIBLIOGRAFÍA -----	12
<b>CAPÍTULO II. COMPORTAMIENTO Y ESTABILIDAD DEL RENDIMIENTO DE CRUZAS SIMPLES DE LÍNEAS DE MAÍZ CONTRASTANTES EN ACG</b> -----	17
RESUMEN -----	17
SUMMARY -----	18
INTRODUCCIÓN -----	19
MATERIALES Y MÉTODOS -----	21
RESULTADOS Y DISCUSIÓN -----	25
CONCLUSIONES -----	40
BIBLIOGRAFÍA -----	41
<b>CAPÍTULO III. PREDICCIÓN GENÓMICA DE LA ACG DE LÍNEAS DE MAÍZ Y DEL RENDIMIENTO DE SUS CRUZAS SIMPLES</b> -----	44
RESUMEN -----	44
SUMMARY -----	45
INTRODUCCIÓN -----	46
MATERIALES Y MÉTODOS -----	48
RESULTADOS Y DISCUSIÓN -----	52
CONCLUSIONES -----	65
BIBLIOGRAFÍA -----	67
<b>CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN GENERAL</b> -----	71
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> -----	75
<b>CAPÍTULO V. CONCLUSIONES GENERALES</b> -----	77
<b>ANEXOS</b> -----	79

## ÍNDICE DE CUADROS

Página

### CAPÍTULO II

<b>Cuadro II.1.</b> Genealogía de las ocho líneas progenitoras de las cruzas.....	22
<b>Cuadro II.2.</b> Cuadrados medios y nivel de significancia de los análisis de varianza individuales para rendimiento de 24 cruzas simples de líneas de maíz contrastantes en ACG, evaluadas en tres ambientes (años).....	25
<b>Cuadro II.3.</b> Comportamiento medio del rendimiento de mazorca por planta ( $\text{g planta}^{-1}$ ) de 24 cruzas simples de líneas de maíz contrastantes en ACG, evaluadas en tres ambientes (años).....	27
<b>Cuadro II.4.</b> Análisis de varianza combinado para el rendimiento de 24 cruzas simples de líneas de maíz contrastantes en ACG, evaluadas en tres ambientes.....	30
<b>Cuadro II.5.</b> Análisis de varianza para rendimiento de 24 cruzas simples evaluadas en tres ambientes, según modelo AMMI.....	31
<b>Cuadro II.6.</b> Rendimientos promedios de mazorca por planta y componentes principales (CP1 y CP2) de las 24 cruzas simples de maíz y tres ambientes de evaluación, según modelo AMMI.....	32
<b>Cuadro II.7.</b> Comparación de medias para rendimiento de mazorca por planta ( $\text{g planta}^{-1}$ ) de los mejores híbridos, evaluados en 2012 y 2013.....	39

### CAPÍTULO III

<b>Cuadro III.1.</b> Genealogía de las ocho líneas progenitoras de las cruzas.....	49
<b>Cuadro III.2.</b> Correlaciones estimadas derivadas de la validación cruzada para tres ambientes (años) y su análisis combinado.....	58
<b>Cuadro III.3.</b> Rendimiento predicho y error estándar para cruzas no evaluadas en campo....	62
<b>Cuadro III.4.</b> Componentes de varianza estimados y su error estándar para tres ambientes (años) y su análisis combinado.....	64

## ÍNDICE DE FIGURAS

Página

### CAPÍTULO II

- Figura II.1.** Gráfico de doble entrada del rendimiento promedio y el CP1, según modelo AMMI, de 24 cruzas simples de líneas de maíz contrastantes en ACG evaluadas en tres ambientes. .... 33
- Figura II.2.** Gráfico de doble entrada de los dos primeros componentes principales para cruzas y ambientes, según modelo AMMI. .... 35

### CAPÍTULO III

- Figura III.1.** Matriz genómica basada en GBS SNPs de ocho líneas autofecundadas y dos compuestos de maíz Chalqueño. .... 54
- Figura III.2.** Proporción de varianza explicada y gráfica de sedimentación de los valores propios a partir de la matriz genómica. .... 55
- Figura III.3.** Cargas de los dos primeros vectores propios para la clasificación de los genotipos en función de su ACG. .... 56
- Figura III.4.** Ajuste del modelo para predicción del rendimiento de cruzas evaluadas en tres ambientes (años 2011-2013) y para el promedio de los tres años de prueba (combinado). .... 61

## CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial por su superficie cultivada, el volumen de su producción, su diversidad genética y de usos en la alimentación humana, y por la infinidad de productos industriales que de él se obtienen. En México es el principal cultivo, ya que participa con el 18% del valor de la producción del sector agrícola y concentra el 33% de la superficie sembrada en el territorio nacional (7.5 millones de hectáreas) (SHCP, 2014).

El rendimiento promedio mundial de maíz es de 5.2 toneladas por hectárea. México ocupa el lugar 78 de 164 países productores de este grano, con un promedio nacional de 3.05 ton/ha (SIAP, 2013). Al respecto, rendimientos más altos se podrían obtener con el uso de híbridos de cruce simple, ya que su capacidad genética para esta característica es mayor que la de híbridos trilineales e híbridos dobles. Sin embargo, para la formación de híbridos de cruce simple es necesario disponer de líneas autofecundadas con alto potencial de rendimiento en los programas públicos de mejoramiento genético (Pérez-López *et al.*, 2014).

Desde 1977, Sprague y Eberhart señalaron que los rendimientos más altos de maíz se alcanzan con híbridos de cruce simple de líneas endogámicas de alta ACG y alto rendimiento derivadas por autofecundación, pero este tipo de líneas no está disponible en México (Escorcía-Gutiérrez *et al.*, 2010; Pérez-López *et al.*, 2014), por lo que es necesaria su formación para utilizarlas como hembras en cruces simples y generar materiales híbridos superiores a los actuales.

El desarrollo de líneas endogámicas de maíz para la producción de híbridos fue propuesta por Shull en 1908 (Márquez, 1988), bajo la consideración de que de una variedad de polinización libre se podrían obtener líneas endogámicas al autofecundar las plantas tantas generaciones como fuera posible, y posteriormente, al realizar las cruces de las líneas se podrían obtener algunas que logran superar el rendimiento promedio de la variedad original.

En maíz se ha obtenido un mayor rendimiento como manifestación, en primer lugar, de la selección recurrente en poblaciones, y en segundo, de la heterosis entre las líneas derivadas de los ciclos avanzados de selección. La heterosis es la base del mejoramiento genético por hibridación, pues es el exceso de vigor en la generación F1 de un híbrido en relación con el promedio de sus progenitores (Gowen, 1952).

Las líneas que se van a usar para el desarrollo de híbridos de cruce simple deben ser de buen comportamiento agronómico, tener tolerancia a la endogamia y ser de alta respuesta heterótica (Vasal *et al.*, 1995); asimismo, conocer su aptitud combinatoria (AC) mejora la eficiencia del programa de mejoramiento genético (Castañon- Najera *et al.*, 2005). La AC es la capacidad que tiene un individuo o una población de combinarse con otros, medida por medio de su progenie (Márquez, 1988). La aptitud combinatoria general (ACG) es el comportamiento promedio de una línea en combinaciones híbridas (Sprague y Tatum, 1942). Se considera asociada a la acción génica de tipo aditivo (Falconer y Mackay, 2006) y por ello es altamente heredable; además, se considera a las líneas como de Alta o Baja ACG de acuerdo a su evaluación con un probador.

Sin embargo, también es importante evaluar el comportamiento del genotipo y fenotipo de las cruzas a través de ambientes de prueba por medio de su estabilidad, ya que como señalan Carrizales *et al.* (2007), los fitomejoradores han aprovechado la media de rendimiento de los genotipos para seleccionar los mejores sin considerar, la mayoría de las veces, que éstos sean en realidad los de mayor estabilidad genética del rendimiento de grano en los diferentes ambientes de prueba; y es que es necesario y muy importante encontrar genotipos “rendidores y estables”. Al respecto, la interacción Genotipo  $\times$  Ambiente encontrada en estudios de evaluación de variedades en varios ambientes justifica la integración de su rendimiento y su estabilidad (Kang, 1990).

Además, el estudio de la interacción  $G \times A$  permite la clasificación de genotipos por su comportamiento en estables o adaptados a un ambiente particular, en función de su rendimiento o de alguna otra característica agronómica (Kandus, 2010). En general, la estabilidad a largo plazo se refiere a la capacidad de los genotipos para ser consistentes, tanto para niveles altos o bajos de rendimiento, en varios ambientes, y la adaptabilidad se refiere a la capacidad de adaptación de un organismo a su medio ambiente; por ejemplo, un genotipo que produce altos rendimientos en condiciones ambientales específicas y rendimientos pobres en otro entorno (Balzarini *et al.*, 2005).

La adaptabilidad de los genotipos es importante porque permite conocer la respuesta a los diferentes ambientes definidos por el clima, el suelo y el manejo agronómico (Eberhart y Russell, 1966). Al respecto Evans (1993), citado por Kang (2002), señaló la necesidad de desarrollar nuevos cultivares con amplia adaptación a una serie de ambientes diversos (selección

de la capacidad de adaptación), y la necesidad de los agricultores de utilizar nuevos cultivares con un rendimiento fiable y consistente a través de los años.

Los estudios sobre la adaptabilidad y la estabilidad fenotípica son extremadamente importantes, porque permiten la individualización de los efectos de la Interacción Genotipo  $\times$  Ambiente (IGA) dentro de genotipos y ambientes, y por tanto, la identificación de la contribución relativa de cada uno para la interacción total (Garbuglio y Ferreira, 2015). Diversos métodos han sido desarrollados para analizar IGA y para seleccionar genotipos que rindan consistentemente a través de varios ambientes (Becker y León, 1988; Kang, 1990). Pero algunos métodos han recibido significativa atención, como el modelo AMMI (Gauch y Zobel, 1996).

El modelo AMMI (Efectos principales aditivos e interacción multiplicativa) es el procedimiento a escoger cuando existen datos de experimentos que muestran significancia en los efectos principales y sus interacciones; AMMI integra algunos modelos estadísticos comúnmente aplicados a series de ensayos de rendimiento. Esta integración incluye el análisis de varianza (ANAVA) cuyo modelo es aditivo, el análisis de componentes principales (PCA) el cual es multiplicativo, y el modelo de regresión lineal de Finlay y Wilkinson (Zobel *et al*, 1988).

En este contexto, el mejorador podría probar cultivares o líneas de 10 a 15 años e identificar aquellos (as) que tienen estabilidad temporal, entonces podría hacer cruzas entre los cultivares más estables y desarrollar materiales base que se utilicen para el desarrollo de las líneas puras

estables (Kang, 2002), que posteriormente se utilicen como progenitoras de híbridos comerciales con estabilidad.

Sin embargo, en un programa de mejoramiento genético numerosas cruizas entre líneas, junto con testigos, necesitan ser evaluadas en grandes ensayos de campo para identificar a los híbridos con mayor potencial de rendimiento en el ambiente objetivo; y muchas veces la mayoría de las cruizas son descartadas después de la evaluación de campo debido a un rendimiento general bajo (Windhausen *et al.*, 2013). Por otra parte, al incrementar el número de líneas a evaluar también aumenta el rango de cruizas posibles, resultando económica y prácticamente imposible evaluar todos los materiales (Bernardo, 1994).

Por lo tanto, es aquí donde el mejorador debe ser capaz de predecir las cruizas no evaluadas para recuperar genotipos superiores, que de otra forma serían desechados (Melo *et al.*, 2014). En consecuencia, se requiere recurrir a nuevas tecnologías, como las herramientas genómicas, que puedan ser útiles para dirigir cruizas e incluso para aumentar la precisión de la predicción de su rendimiento utilizando diseños óptimos (Bueno Filho y Gilmour, 2003). La selección genómica (SG) provee un método alternativo o complementario para usar información del genoma completo en la toma de decisiones para el mejoramiento.

En la nueva estrategia para el estudio y mejoramiento de las características cuantitativas, “Selección Genómica” (SG) (Meuwissen *et al.*, 2001) o predicción genómica, la principal peculiaridad de la metodología es que se emplean una multitud de marcadores SNPs (Polimorfismo de un solo nucleótido) distribuidos por todo el genoma y que sirven para explorar

una porción muy significativa de la variabilidad genética presente en ese genoma. Pero debe quedar claro que las fuentes de información más importantes siguen siendo los datos fenotípicos de evaluaciones de campo para los caracteres de interés en conjunto con los marcadores moleculares.

La SG es un proceso en dos etapas: en la primera se estiman los efectos de los marcadores (>50,000) en una población de referencia (training population) a la que se genotifica (Sevilla, 2007) y en la cual se miden las características de interés; en la segunda etapa se utiliza esta información para predecir los valores genéticos en una población de referencia (testing population) a la que únicamente se le realiza la genotipificación (Gallego *et al.*, 2011).

El desarrollo de la SG ha sido posible gracias a las nuevas tecnologías de secuenciación masiva (NGS) y la genotipificación de alto rendimiento, llamadas secuenciación de próxima generación, pues han permitido obtener datos de grandes secciones del genoma, sin que sea un requisito conocer marcadores previos. Asimismo, la existencia de enormes cantidades de información ha requerido el desarrollo de nuevas herramientas estadísticas y bioinformáticas para su análisis (Varshney *et al.*, 2009; Gallego *et al.*, 2011; Eguiarte, 2013).

Las nuevas tecnologías incluyen la preparación de librerías, la secuenciación y el análisis bioinformático para identificar SNPs, con base en la re-secuenciación del genoma en pequeños fragmentos de ADN; la alineación de estos fragmentos entre sí y/o contra un genoma de referencia permite identificar variaciones genéticas a nivel de una sola base de nucleótido (Davey *et al.*, 2011).

Uno de estos procedimientos es el uso de “GBS” (Genotyping-By-Sequencing), un sistema con reacciones de amplificación “múltiple” (ensayos múltiples que se llevan a cabo simultáneamente, en los cuales los pasos de detección y de análisis son generalmente llevados a cabo en paralelo) para la construcción de librerías de representación reducida para la plataforma Illumina NGS. Se basa en la reducción de la complejidad del genoma por medio de enzimas de restricción (ER) sensibles a la metilación, con lo cual regiones repetitivas del genoma se pueden evitar y la copia dirigida de regiones es dos a tres veces más eficiente. Es un enfoque simple, rápido y extremadamente específico. Esto simplifica enormemente los problemas de alineación difíciles computacionalmente en especies con altos niveles de diversidad genética (Elshire *et al.*, 2011). La metodología consiste en las siguientes etapas:

A. Obtención de ADN de alta pureza y posterior normalización de la cantidad de ADN.

B. Digestión, ligamiento de secuencias y amplificación de fragmentos (código de barras).

1. Fragmentación del ADN con la endonucleasa *ApeKI*, la cual reconoce la secuencia:



donde, W es A o T. Esta es una enzima altamente termoestable de tipo II que genera extremos de ADN pegajosos en el extremo 5' de 3 pares de bases (pb). Es una enzima parcialmente sensible a la metilación (no corta si la base 3' de la secuencia de reconocimiento en ambas cadenas es 5-metilcitosina)

2. Ligamiento de adaptadores y secuencias adicionales a cada fragmento de ADN.

Los adaptadores son oligonucleótidos que contienen: la secuencia complementaria de uno de los dos tipos de oligos que se encuentran unidos a los canales de flujo del secuenciador. Uno de los adaptadores cuenta con la secuencia “código de barras” que permite identificar las muestras. Los adaptadores están a la misma concentración antes de ser adicionados en las distintas muestras.

El adaptador con “código de barras” tiene una terminación de 4 a 8 pb en el extremo 3' de su cadena superior y un saliente de 3 pb en el extremo 5' de su cadena inferior que es complementario a la terminación 'pegajosa' generada por *ApeKI* (CWG). Las secuencias de los dos oligonucleótidos que comprenden el adaptador de código de barras son: 5'-ACACTCTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTxxxx y 5'-CWGyyyyAGATCGGAAGAGCGTCGTGTAGGGAAAGAGTGT, donde " xxxx " y " yyyy " denotan el código de barras y códigos de barras complementario, respectivamente. Las secuencias adicionales son secuencias usadas para amplificar las dos lecturas (reads); y los sitios de restricción correspondientes.

3. Confirmación de la calidad de la librería por electroforesis.

4. Generación de grupos (clusters) de fragmentos amplificados.

a. Hibridación de los fragmentos de ADN recién preparados con adaptadores y secuencias adicionales. Esta unión es entre la secuencia de uno de los adaptadores y la secuencia de uno de los dos tipos de oligos unidos en los canales de la celda de flujo del secuenciador.

b. Amplificación por PCR (reacción en cadena de la polimerasa) de la cadena complementaria.

c. Desnaturalización de la doble cadena recién formada y lavado de la cadena original.

d. Formación de puentes de amplificación. En este paso, la cadena que queda se “dobla” para alinear el adaptador restante con el otro oligo unido a la celda de flujo. Este oligo es diferente al que se unió el ADN originalmente.

e. Amplificación por PCR de la cadena complementaria del puente de amplificación.

f. Desnaturalización y eliminación por lavado de las cadenas complementarias. Con ello, se generan dos cadenas de ADN para un fragmento. Este proceso se repite varias veces hasta generar millones de clusters de todos los fragmentos.

## 5. Secuenciación.

a. Primera extensión de la cadena de ADN. Esta extensión inicia en el *primer* de secuenciación y continúa a lo largo del fragmento de ADN para producir la primera lectura. Ocurre por la unión de nucleótidos marcados con diferentes colores. A esto se le llama “secuenciación por síntesis”.

b. Excitación y captura de las emisiones luminosas de las bases adicionadas en esta primera extensión.

c. Eliminación por lavado de la secuencia extendida.

- d. Adición e hibridación a la copia del iniciador (*primer*) complementario a la secuencia indicadora del “código de barras” uno (index 1).
  - e. Extensión de la cadena de ADN a partir de este punto.
  - f. Excitación y captura de las emisiones luminosas de las bases adicionadas como ocurrió con la primera lectura.
  - g. Eliminación por lavado de la secuencia extendida.
  - h. Extensión y secuenciación de la secuencia indicadora del “código de barras” dos (index 2) de igual forma como sucedió con el código de barras” uno. Esta ocurre por la unión al oligo dos de la celda de flujo.
  - i. Extensión y secuenciación de la lectura dos (read 2) de igual forma como ocurrió con la lectura uno (read 1).
6. Alineamiento e identificación de variantes.

Además, los avances en las tecnologías de última generación han bajado dramáticamente los costos de secuenciación del ADN, hasta el punto de que el uso de GBS ahora es factible para especies de alta diversidad y genoma grande (Elshire *et al.*, 2011).

Diversos resultados de estudios usando selección genómica han indicado que el rendimiento de híbridos de maíz puede ser predicho con alta eficacia utilizando alguno de los diversos modelos de predicción (Zhao *et al.*, 2012; Massman *et al.*, 2013; Melo *et al.*, 2014). Dicha

precisión puede ser aumentada al utilizar una alta densidad de marcadores SNPs, por ejemplo con el empleo de GBS (Zhang *et al.*, 2014).

En los estudios de predicción genómica siempre se toma como factor importante a la heredabilidad, ya que representa la parte porcentual de la varianza fenotípica atribuible a los efectos totales de los genes de una población (Molina, 1992). La heredabilidad afecta la capacidad de predicción genómica y por ello se requiere de los marcadores de alta densidad (GBS SNPs) para obtener una buena precisión de la predicción, tanto para características simples y complejas, si sus heredabilidades son bajas (Zhang *et al.*, 2014).

El mejoramiento genético convencional asociado con la selección genómica, y las correspondientes metodologías de ambos sistemas, pueden proporcionar información relativa a la diversidad genética y agronómica de los materiales silvestres y cultivados, sobre la cual se puedan ejecutar decisiones pertinentes en los programas de mejoramiento para incrementar el rendimiento. Sin embargo, hasta ahora no hay reportes en la literatura de que se haya utilizado la metodología de predicción o selección genómica del rendimiento de cruzas simples de genotipos de maíz que se cultivan en México, ni de la clasificación molecular de líneas contrastantes en su ACG utilizando GBS SNPs.

Por lo anterior, la presente investigación tuvo los siguientes:

## OBJETIVOS

- a) Evaluar el comportamiento y estabilidad del rendimiento de cruzas simples de líneas de maíz contrastantes en ACG mediante las metodologías tradicionales de mejoramiento,
- y b) evaluar la metodología de selección genómica para la predicción de la ACG de líneas autofecundadas de maíz y del rendimiento de sus cruzas simples, a fin de proveer elementos y nuevas alternativas para el mejoramiento de esta característica cuantitativa.

## HIPÓTESIS

- a) El comportamiento del rendimiento difiere entre y dentro de los tipos de cruzas simples posibles que se forman entre líneas de Alta y Baja ACG.
- b) El uso de marcadores moleculares SNPs a una densidad alta en el genoma de líneas de maíz permite discriminarlas con base en su alta o baja ACG, así como hacer predicciones más eficaces y directas del rendimiento de sus cruzas simples.

## BIBLIOGRAFÍA

**Balzarini M., C. Bruno y A. Arroyo (2005)** Análisis de ensayos agrícolas multi-ambientales: Ejemplos con Info-Gen. Editorial Brujas. Córdoba, Argentina. 141 p.

**Becker H. C. and J. León (1988)** Stability analysis in plant breeding. *Plant Breeding* 101:1-23. doi: 10.1111/j.1439-0523.1988.tb00261.x

**Bernardo R. (1994)** Prediction of maize single-cross performance using RFLPs and information from related hybrids. *Crop Science* 34:20-25. doi:10.2135/cropsci1994.0011183X003400010003x

- Bueno Filho J. S. de S. and S. G. Gilmour (2003)** Planning incomplete block experiments when treatments are genetically related. *Biometrics* 59:375-381.
- Carrizales M. N., H. Córdova O., J. de J. Sánchez G., S. Mena M., F. Márquez S., F. Recendiz H., M. A. García V. y J. F. Casas S. (2007)** Estabilidad en genotipos de maíz tropical del patrón heterótico «Tuxpeño × Eto». *Scientia-CUCBA* 9:47-56.
- Castañon-Najera G., L. Latournerie-Moreno y M. Mendoza-Elos (2005)** Macro de SAS-IML para analizar los diseños II y IV de Griffing. *Universidad y Ciencia* 21:27-35.
- Davey, J. W., P. A. Hohenlohe, P. D. Etter, J. Q. Boone, J. M. Catchen and M. L. Blaxter (2011)** Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nature Reviews Genetics* 12:499-510. doi:10.1038/nrg3012
- Eberhart S. A. and W. A. Russell (1966)** Stability parameters for comparing varieties. *Crop Science* 6:36-40. doi:10.2135/cropsci1966.0011183X000600010011x
- Eguiarte L. E., J. A. Aguirre-Ligouri, L. Jardón-Barbolla, E. Aguirre-Planter y V. Souza (2013)** Genómica de poblaciones: Nada en evolución va a tener sentido si no es a la luz de la genómica, y nada en genómica tendrá sentido si no es a la luz de la evolución. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* 16:42-56.
- Elshire R. J., J. C. Glaubitz, Q. Sun, J. A. Poland, K. Kawamoto, E. S. Buckler and S. E. Mitchell (2011)** A robust, simple Genotyping-by-Sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS ONE* 6: 1-10 e19379. doi:10.1371/journal.pone.0019379
- Escorcia-Gutiérrez N., J. D. Molina-Galán., F. Castillo-González y J. A. Mejía-Contreras (2010)** Rendimiento, heterosis y depresión endogámica en cruzas simples de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana* 33:271-279.
- Falconer D. S. y T. F. C. Mackay (2006)** Introducción a la Genética Cuantitativa. Acribia S. A. Zaragoza, España. 469 p.

- Gallego F. J., A. Sánchez B., P. Arús, M. A. Toro y P. Martínez P. (2011)** Selección Genética y Genómica en Agricultura, Ganadería, Silvicultura y Acuicultura. Informe de Vigilancia Tecnológica. Genoma España. Madrid, España. 89 p.
- Garbuglio D. D. and D. F. Ferreira (2015)** FGGE method: description and application in data from maize cultivars. *Euphytica*. doi:10.1007/s10681-015-1375-6
- Gauch H. G. and R. W. Zobel (1996)** AMMI analysis of yield trials. *In: Genotype-by-environment interaction*. Kang M. S. and H. G. Gauch (eds.). CRC Press, Boca Raton, FL. 85-122 pp.
- Gowen J. W. (1952)** Heterosis. Iowa State College Press, Ames. 552 p.
- Kandus M., D. Almorza, R. Boggio Ronceros and J. C. Salerno (2010)** Statistical models for evaluating the genotype-environment interaction in maize (*Zea mays* L.). *PHYTON International Journal of Experimental Botany* 79:39-46.
- Kang M. S. (1990)** Understanding and utilization of genotype by environment interaction in plant breeding. *In: Genotype by environment interaction in plant breeding*. Kang M. S. (ed.). Louisiana State University, Agricultural Center. Baton Rouge, Louisiana, USA. 65 p.
- Kang M. S. (2002)** Genotype-environment interaction: Progress and prospects. *In: section II: Genotype-environment interaction and stability analysis. Quantitative Genetics, Genomics and Plant Breeding*. Kang M. S. (ed.). Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana, USA. 221-243 pp.
- Márquez S. F. (1988)** Genotecnia Vegetal. Métodos, Teoría, Resultados. Tomo II. AGT Editor S. A. 665 p.
- Massman J. M., A. Gordillo, R. E. Lorenzana and R. Bernardo (2013)** Genomewide predictions from maize single-cross data. *Theoretical and Applied Genetics* 126:13-22. doi:10.1007/s00122-012-1955-y
- Melo W. M. C., R. G. V. Pinho and M. Balestre (2014)** Prediction of maize single cross hybrids using the total effects of associated markers approach assessed by cross-

validation and regional trials. *The Scientific World Journal* 2014:1-9.  
doi:10.1155/2014/924348

**Meuwissen T. H. E., B. J. Hayes and M. E. Goddard (2001)** Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157:1819-1829.

**Molina G. J. D. (1992)** Introducción a la Genética de Poblaciones y Cuantitativa (algunas implicaciones en genotecnia). AGT Editor, S. A. México, D. F. 349 p.

**Pérez-López F. J., R. Lobato-Ortiz, J. de J. García-Zavala, J. D. Molina-Galán, J. de J. López-Reynoso, T. Cervantes-Santana<sup>(†)</sup> (2014)** Líneas homocigóticas de maíz de alto rendimiento como progenitoras de híbridos de cruce simple. *Agrociencia* 48:425-437.

**SCHP (Secretaría de Hacienda y Crédito Público) (2014)** Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero. Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica, Análisis Sectorial y Tecnologías de la Información. (en línea). Consultado 14 marzo de 2015. Disponible en: <http://www.financierarural.gob.mx>

**Sevilla S. D. (2007)** Metodología de los estudios de asociación genética. *Revista Insuficiencia Cardiaca* 2:111-114.

**SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera) (2013)** Estadísticas de siembras y cosechas. (en línea). Consultado 14 marzo de 2015. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx>

**Sprague G. S. y L. A. Tatum (1942)** General vs. specific combining ability in single crosses of corn. *Agronomy Journal* 34:923-932.  
doi:10.2134/agronj1942.00021962003400100008x

**Sprague G. F. and S. A. Eberhart (1977)** Corn breeding. *In: Corn and corn improvement.* Sprague G. F. (ed.). Amer. Soc. Agron. Madison, Wisconsin. 305-362 pp.

**Varshney R. K., S. N. Nayak, G. D. May and S. A. Jackson (2009)** Next-generation sequencing technologies and their implications for crop genetics and breeding. *Trends in Biotechnology* 27:522-530. doi: 10.1016/j.tibtech.2009.05.006

- Vasal, S. K., B. S. Dhillon, G. Srinivasan, S. D. McLean, J. Crossa, and S. H. Zhang (1995)** Effect of S3 recurrent selection in four tropical maize populations on their selfed and randomly mated generations. *Crop Science* 35:697-702. doi:10.2135/cropsci1995.0011183X003500030008x
- Windhausen V. S., G. N. Atlin, J. M. Hickey, J. Crossa, J.-L. Jannink, M. E. Sorrells, B. Raman, J. E. Cairns, A. Tarekegne, K. Semagn, Y. Beyene, P. Grudloyma, F. Technow, C. Riedelsheimer and A. E. Melchinger (2013)** Effectiveness of genomic prediction of maize hybrid performance in different breeding populations and environments. *Genes/Genomes/Genetics* 2:1427-1436. doi:10.1534/g3.112.003699
- Zhang X., P. Pérez-Rodríguez, K. Semagn, Y. Beyene, R. Babu, M. A. López-Cruz, F. San Vicente, M. Olsen, E. Buckler, J.-L. Jannink, B. M. Prasanna and J. Crossa (2014)** Genomic prediction in biparental tropical maize populations in water-stressed and well-watered environments using low-density and GBS SNPs. *Heredity* 1-9. doi:10.1038/hdy.2014.99
- Zhao Y., M. Gowda, W. Liu, T. Würschum, H. P. Maurer, F. H. Longin, N. Ranc and J. C. Reif (2012)** Accuracy of genomic selection in European maize elite breeding populations. *Theoretical and Applied Genetics* 124:769-776. doi:10.1007/s00122-011-1745-y
- Zobel R. W., M. J. Wright and H. G. Gauch (1988)** Statistical analysis of a yield trial. *Agronomy Journal* 80:388-393. doi:10.2134/agronj1988.00021962008000030002x

## **CAPÍTULO II. COMPORTAMIENTO Y ESTABILIDAD DEL RENDIMIENTO DE CRUZAS SIMPLES DE LÍNEAS DE MAÍZ CONTRASTANTES EN ACG**

### **RESUMEN**

En los programas de mejoramiento genético enfocados a desarrollar híbridos de maíz (*Zea mays* L.), conocer el comportamiento del rendimiento de líneas en combinaciones híbridas es trascendental, al igual que su estabilidad. El objetivo del presente estudio fue evaluar el comportamiento y estabilidad del rendimiento de cruzas simples entre líneas de maíz de alta y baja Aptitud Combinatoria General (ACG). Se emplearon ocho líneas de la raza Chalqueño, cuatro de alta (A) y cuatro de baja (B) ACG, con diferente grado de endogamia. Veinticuatro de las 28 cruzas simples posibles fueron evaluadas en dos localidades, de 2011 a 2013, mediante el rendimiento de mazorca por planta ( $\text{g planta}^{-1}$ ), junto a cuatro testigos comerciales en 2012 y 2013. Se realizaron análisis de varianza por ambiente y uno combinado, y para evaluar estabilidad y adaptación se utilizó el método AMMI. Se detectaron diferencias significativas ( $p \leq 0.01$ ) entre genotipos en cada ambiente, y la mayoría de las cruzas  $A \times B$  fueron las de mayor rendimiento. También hubo diferencias significativas entre ambientes, y en la interacción ambiente  $\times$  genotipo. La mayoría de las cruzas  $A \times B$  fueron inestables y con adaptación a un ambiente específico; pero dos de estas,  $A2 \times B4$  y  $A3 \times B3$ , igualaron en rendimiento al mejor testigo comercial en los dos ambientes en que se evaluaron. En el desempeño para rendimiento de las cruzas interactuaron factores como: acumulación de efectos aditivos, presencia de efectos de dominancia y epistasis, divergencia genética entre las líneas, adaptación y adaptabilidad de la craza, la ACG contrastante de sus líneas progenitoras y la interacción del genotipo con el ambiente.

Palabras clave: *Zea mays* L., ACG alta y baja, AMMI, adaptación, adaptabilidad.

## **YIELD PERFORMANCE AND STABILITY OF MAIZE SINGLE CROSSES AMONG INBRED LINES CONTRASTING IN GCA**

### **SUMMARY**

In maize (*Zea mays* L.) breeding programs focused on developing hybrids, it is very important to know the yield performance and stability of inbred lines in hybrid combinations. The aim of this study was to evaluate the yield performance and stability of single crosses among inbred lines of maize of high and low General Combining Ability (GCA). Eight lines of Chalqueño maize race: four of high (A) and four of low (B) GCA, with varying degrees of inbreeding, were used. Twenty-four of the 28 possible single crosses were evaluated in two locations, in 2011-2013, and ear yield per plant (g plant<sup>-1</sup>) was measured; four commercial checks were included in 2012 and 2013. Single analyses of variance were performed for each environment as well as a combined one for all environments. The AMMI model was used to evaluate the stability and adaptation of the crosses. Significant differences ( $p \leq 0.01$ ) among genotypes were detected in each environment, and most of the crosses  $A \times B$  had the highest yields. There were also significant differences between environments, and the genotype  $\times$  environment interaction was significant. Most crosses  $A \times B$  were unstable and had adaptation to a specific environment; but two of these crosses,  $A_2 \times B_4$  and  $A_3 \times B_3$  equaled the yield of the best commercial check in the two environments in which they were tested. Yield performance of the crosses was affected by interacting factors such as accumulation of additive effects, presence of dominance and epistasis effects, genetic divergence between the lines, adaptation and adaptability of the

crosses, the contrasting GCA of their parental lines, and the genotype by environment interaction.

Keywords: *Zea mays* L., high and low GCA, AMMI, adaptation, adaptability.

## INTRODUCCIÓN

La información sobre el rendimiento de combinaciones híbridas de líneas de maíz (*Zea mays* L.) es crucial en los programas de desarrollo de híbridos, para identificar aquellas que posiblemente producirán progenie que presente altos niveles de heterosis, sin la necesidad de hacer todas las cruzas posibles entre las líneas disponibles en un programa de mejoramiento; con ello se reducirán los costos y tiempo asociados a la evaluación y producción de híbridos comerciales (Oyekunle *et al.*, 2015). Pero para lograr lo anterior se requiere estudiar diversos factores que influyen en el rendimiento, ya que es una característica cuantitativa y por ello altamente influenciada por el ambiente.

La capacidad genética que tiene un individuo de combinarse con otros es la aptitud combinatoria (AC), y es medida por medio de su progenie (Márquez, 1988). El comportamiento promedio de una línea en combinaciones híbridas es la aptitud combinatoria general (ACG) (Sprague y Tatum, 1942). Esta se considera asociada a la acción génica de tipo aditivo (Falconer, 2006), y es evaluada por medio de un probador para clasificar a las líneas como de alta o baja ACG (Lobato-Ortiz *et al.*, 2010).

Jonhson y Hayes en los años 40 del siglo XX indicaron que cuando se cruzan materiales de baja aptitud combinatoria, se obtienen híbridos de un rendimiento bajo; pero cuando se cruzan líneas de alta aptitud combinatoria, los rendimientos son altos. Sin embargo, al cruzar una línea de baja aptitud combinatoria con otra de alta, se obtiene un híbrido de un rendimiento equivalente al de un cruzamiento entre líneas de alta aptitud combinatoria, por la acción dominante de los alelos de la línea de alta ACG sobre los alelos de la línea de baja ACG.

Reyes *et al.* (2004) y Escorcia-Gutiérrez *et al.* (2010) encontraron que en cruza simples de alto rendimiento al menos una de sus líneas fue de alta ACG, y las cruza simples con más bajo rendimiento fueron aquellas cuyas dos líneas fueron las de más baja ACG; y que los efectos de ACE fueron altos y positivos en una cruza de alto rendimiento, y altos negativos en una cruza de bajo rendimiento; además, los efectos de ACE en una cruza son independientes de los efectos de ACG de sus líneas, porque estos efectos pueden o no interaccionar en la cruza en forma positiva o negativa, y si lo hacen, puede ser en mayor o menor grado.

También es importante analizar cómo es el comportamiento del rendimiento de las cruza simples en diferentes ambientes; para ello existen procedimientos como el método AMMI (Efectos principales aditivos e interacción multiplicativa) (Zobel *et al.*, 1988), que consiste en combinar las técnicas del análisis de varianza y el análisis de componentes principales (CP) en un solo modelo. El análisis de varianza permite estudiar los efectos principales de los genotipos y ambientes, y los análisis de CP la Interacción Genotipo  $\times$  Ambiente (IGA), la cual es tratada de forma multivariada para su interpretación. Adicionalmente, el uso del biplot (Gauch, 1988)

es eficaz para el análisis de datos del  $G \times A$ . El modelo AMMI puede ser usado principalmente para identificar los ambientes y genotipos de comportamiento superior (Rossi y Benin, 2012).

El estudio de la IGA permite identificar a los genotipos por su comportamiento, en función de su rendimiento bajo dos situaciones diferentes: estables, o adaptados a un ambiente particular (Kandus *et al.*, 2010). Un genotipo estable es aquel que tiene la capacidad de mostrar un comportamiento altamente previsible en función del estímulo ambiental (Gordón-Mendoza *et al.*, 2006). Un genotipo adaptado es aquel que sobrevive y se reproduce en un ambiente particular (Allard y Hansche, 1964); pero este además puede presentar adaptabilidad, la cual se refiere a la capacidad del genotipo para aprovechar ventajosamente los estímulos del ambiente (Gordón-Mendoza *et al.*, 2006).

Dado que en el desempeño de los genotipos para rendimiento están implícitos diversos factores genéticos y ambientales interactuando entre ellos, el objetivo del presente estudio fue evaluar el comportamiento y estabilidad del rendimiento de las cruzas simples entre líneas de maíz de alta y baja Aptitud Combinatoria General.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Material biológico**

Para formar las cruzas simples, se emplearon ocho líneas autofecundadas de maíz de ACG alta (A1, A2, A3, A4) y baja (B1, B2, B3, B4); ACG medida en su fase temprana (Comunicación personal Molina, 2011), derivadas de los compuestos varietales que se presentan en el Cuadro

II.1, todos de la raza Chalqueño. El compuesto Xolache se formó por las colecciones: México 46, 48, 80, 127, 143, 153, 158, 166, 171, 172, 180, Puebla 21, 241, 242, 243, 244, 260, Durango 2, Guanajuato 26, Tlaxcala 5, Michoacán 1975 y Chalqueño Grueso. El compuesto México Grupo 10 se formó por las colecciones: México 180, 171, 172, 68, 70, 71, 115, 142, 143, 146, 156, 159, 177, y 200. De las 28 cruzas simples posibles entre las ocho líneas, sólo se utilizaron 24; pues para las cruzas  $A2 \times A3$ ,  $A2 \times B1$ ,  $A2 \times B2$ ,  $A2 \times B3$ , no se contó con suficiente semilla. Además, se incluyeron como testigos a cuatro híbridos comerciales de diferentes tipos de cruza: HS2 (trilineal), Promesa (doble), San José (simple) y Buho (trilineal).

**Cuadro II.1.** Genealogía de las ocho líneas progenitoras de las cruzas.

Línea	Genealogía	(S <sub>n</sub> )
A1	Xolache (SM <sub>6</sub> )-4-1-1	(S <sub>3</sub> )
A2	Xolache (Orig.)-112-1 (9)-1	(S <sub>11</sub> )
A3	Méx. Gpo.10 (Orig.)-6-1-1	(S <sub>3</sub> )
A4	Méx. Gpo.10 (Orig.)-13-1-1	(S <sub>3</sub> )
B1	Méx. Gpo.10 (Orig.)-15-1	(S <sub>2</sub> )
B2	Méx. Gpo.10 (Orig.)-146-1-1	(S <sub>3</sub> )
B3	Xolache (Orig.)-67-1 (9)-1	(S <sub>11</sub> )
B4	Xolache (Orig.)-67-1-1-1	(S <sub>4</sub> )

S<sub>n</sub> = línea de n autofecundaciones; 1 (9) = 1-1-1-1-1-1-1-1-1.

### Establecimiento del experimento

La evaluación de las 24 cruzas simples se hizo durante el ciclo primavera-verano 2011 y 2012 en el Campo Experimental Montecillo del Colegio de Postgraduados, y en 2013 en el Campo

Experimental Santa Lucia de Prías del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Estado de México. Durante 2012 y 2013 se incluyeron al experimento los cuatro testigos comerciales. Se usó un diseño experimental de bloques completos al azar con tres repeticiones, con unidades experimentales constituidas por parcelas de dos surcos separados a 80 cm y 6 m de largo, conteniendo 13 matas de dos plantas por surco y 26 matas por parcela.

### **Manejo del experimento**

Se aplicó un riego de germinación y riegos de auxilio hasta el establecimiento de las lluvias. Se fertilizó utilizando 120 kg N y 80 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup>, aplicando todo el P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y la mitad de N al momento de la siembra, y el resto del N en la segunda escarda. Se realizó un primer paso de cultivo a los 15 días de la germinación, y una segunda escarda a los 30 días. Se utilizó Gesaprim Calibre 90 GDA® a dosis de 3 L ha<sup>-1</sup> a los 7 días después de la siembra para control de malezas.

### **Variable evaluada**

Se midió el rendimiento de mazorca por planta (peso de mazorca por parcela/número de plantas por parcela) en g planta<sup>-1</sup>.

### **Análisis estadísticos**

Los análisis de los datos se realizaron mediante análisis de varianza individuales por año para determinar la significancia y comparación entre genotipos; y un análisis combinado a través de ambientes para determinar la existencia de interacción genotipo por ambiente.

En el análisis de estabilidad, se empleó el procedimiento de efectos principales aditivos e interacción multiplicativa (AMMI) para determinar los efectos de genotipos, ambientes y sus interacciones; el modelo está dado por:

$$Y_{ij} = \mu + g_i + e_j + \sum_{k=1}^n \lambda_k \alpha_{ik} \gamma_{jk} + E_{ij}$$

donde:  $Y_{ij}$  = rendimiento del  $i$ -ésimo genotipo en el  $j$ -ésimo ambiente;  $\mu$  = media general;  $g_i$  = efecto del  $i$ -ésimo genotipo;  $e_j$  = efecto del  $j$ -ésimo ambiente;  $\lambda_k$  = raíz cuadrada del vector característico del  $k$ -ésimo eje del ACP;  $\alpha_{ik}$  = calificación del ACP para el  $k$ -ésimo eje del  $i$ -ésimo genotipo;  $\gamma_{jk}$  = calificación del ACP para el  $k$ -ésimo eje del  $j$ -ésimo ambiente;  $E_{ij}$  = valor del error.

En dicho modelo se tomó a los genotipos como factor fijo, y los ambientes y repeticiones como factores aleatorios. Además, se utilizó la técnica del biplot para visualizar e interpretar los resultados proporcionados por el procedimiento.

### **Software**

Para todos los análisis estadísticos se utilizó el paquete SAS versión 9.1 (SAS Institute, 2002).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis de varianza individual realizados para cada uno de los tres años de evaluación (Cuadro II.2) mostraron alta significancia ( $p \leq 0.01$ ) entre genotipos en cada uno de los ambientes.

**Cuadro II.2.** Cuadrados medios y nivel de significancia de los análisis de varianza individuales para rendimiento de 24 cruzas simples de líneas de maíz contrastantes en ACG, evaluadas en tres ambientes (años).

FV	GL	Años		
		2011	2012	2013
Rep	2	796.92**	541.69	209.96
Genotipos	23	663.00**	2490.91**	1018.85**
Cruzas A × A	4	263.13ns	1511.86**	194.13ns
Cruzas B × B	5	297.72*	1752.58ns	708.25**
Cruzas A × B	12	758.31**	3009.83**	1224.14**
Materiales	2	1804.09**	3181.33ns	2213.04**
Error	46	123.91	473.42	155.86
C.V. (%)		18.85	19.60	24.07
Rend Media		59.05	111.01	51.86

GL = Grados de libertad; Rend = Rendimiento de mazorca por planta; \*\* ( $p \leq 0.01$ ); \* ( $p \leq 0.05$ );

ns = no significativo.

El coeficiente de variación fue de 18.85 % a 24 %, lo cual es aceptable para características altamente cuantitativas y muy influenciadas por el efecto ambiental. Los coeficientes de variación para los años 2011 y 2012 tuvieron valores similares en comparación con el del ciclo 2013, lo cual puede ser atribuido a que en los primeros la localidad fue la misma (Montecillo) y en el último la localidad fue diferente (Santa Lucía de Prías).

Asimismo, la partición de la fuente de variación genotipos indicó que hubo significancia entre las cruzas de Alta  $\times$  Alta sólo en 2012 y sin significancia en las cruzas Baja  $\times$  Baja y entre materiales para este mismo año. Entre las cruzas de Alta  $\times$  Baja hubo significancia para el rendimiento en los tres años de evaluación, lo que indicó diferentes comportamientos de las interacciones entre los alelos de alta y baja ACG a través de ambientes.

En el Cuadro II.3 se presentan las medias de rendimiento para cada una de las cruzas simples evaluadas. Para el año 2011 se tuvieron estadísticamente seis niveles de rendimiento, donde 12 cruzas estuvieron en el nivel más alto; para 2012 hubo cinco niveles, y seis cruzas estuvieron en el primero de ellos; en el 2013 se formaron seis niveles y estadísticamente las mejores cruzas fueron cinco. Dentro del grupo de las mejores cruzas del 2011 estuvieron el 20 % del total de las cruzas A  $\times$  A, el 69 % de las A  $\times$  B, y el 33 % del total de las B  $\times$  B; aunque la prueba estadística no marcó diferencias estrictas dentro del grupo, ocho cruzas A  $\times$  B tuvieron el mejor desempeño, al tener rendimientos de 66.76 a 88.69 g planta<sup>-1</sup>, en comparación con la de A  $\times$  A que tuvo 64.99 g planta<sup>-1</sup>.

**Cuadro II.3.** Comportamiento medio del rendimiento de mazorca por planta (g planta<sup>-1</sup>) de 24 cruza simples de líneas de maíz contrastantes en ACG, evaluadas en tres ambientes (años).

Genotipo	Años		
	2011	2012	2013
A3 × B3	88.69a	159.99ab	76.12a...c
A4 × B3	84.37ab	122.26b...d	68.27a...e
A4 × B4	79.03a...c	120.56b...d	87.82ab
A1 × B4	74.62a...d	99.51b...d	54.01b...f
A1 × B3	73.50a...e	92.96b...d	55.61b...f
A2 × B4	73.10a...e	140.55a...c	100.48a
B2 × B3	68.15a...f	107.05b...d	73.88a...d
A3 × B4	66.77a...f	191.99a	49.68b...f
A4 × B2	66.76a...f	93.83b...d	53.37b...f
A3 × A4	64.99a...f	134.31a...d	35.58d...f
A3 × B2	63.23a...f	121.08b...d	46.31c...f
B3 × B4	57.71a...f	129.55a...d	49.04b...f
B2 × B4	52.95b...f	69.39d	54.65b...f
A1 × B1	51.92b...f	110.22b...d	32.85ef
A1 × A3	51.02b...f	123.30b...d	43.43c...f
B1 × B3	50.47b...f	116.67b...d	57.53b...f
A2 × A4	49.47b...f	98.92b...d	42.95c...f
B1 × B2	47.85c...f	77.51cd	48.72b...f
A4 × B1	47.15c...f	89.45cd	45.35c...f
A3 × B1	45.86c...f	129.45a...d	40.38c...f
A1 × A2	43.66d...f	100.34b...d	40.54c...f
A1 × A4	40.81d...f	77.08cd	24.04f
B1 × B4	38.42e...f	81.78cd	26.60f
A1 × B2	36.59f	76.58cd	37.50c...f
DMS	35.12	68.65	39.39

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

DMS = Diferencia mínima significativa.

En el 2012 el grupo de las mejores cruzas fue más reducido, pero estas fueron las de más alto rendimiento. Este grupo contuvo al 20 % de las cruzas A × A, el 30.8 % del total de las cruzas A × B, y el 16.7 % de B × B, el mejor desempeño lo tuvieron tres cruzas A × B con rendimientos de 191.99 a 140.55 g planta<sup>-1</sup> en comparación con 134.31 g planta<sup>-1</sup> de A × A. Para el ciclo de 2013, el grupo de las mejores cruzas se redujo aún más, con 0 % de cruzas A × A, 30.8 % de las cruzas A × B y 16.7 % de B × B, y el mejor desempeño lo siguieron teniendo cruzas A × B, con un rendimiento de 100.48 a 68.27 g planta<sup>-1</sup>.

En cada uno de los ambientes evaluados (años), las cruzas simples con mayor rendimiento fueron las provenientes de líneas de Alta × Baja ACG, lo cual es un indicativo de una alta heterosis entre líneas de ACG contrastante, bajo el supuesto de que existen alelos contrastantes para alta y baja ACG, y que la planta híbrida más vigorosa es aquella que posee el mayor número de loci heterocigóticos, como lo señalan (Poehlman y Allen, 2003) de acuerdo con la hipótesis de sobredominancia.

Sin embargo, no todas las cruzas del tipo Alta × Baja respondieron en igual forma, pues hubo algunas con igual rendimiento que cruzas de Alta × Alta y Baja × Baja, e inclusive algunas cruzas de Baja × Baja fueron mejores que ellas; esto pudo resultar así porque genéticamente es posible que alguna combinación de dos líneas de Baja ACG rindan bien por complementar sus alelos residuales para alto rendimiento en la F1, según la hipótesis de dominancia (Lippman y Zamir *et al.*, 2007). Es decir, dado que algunas líneas tienen de dos a cuatro autofecundaciones, se infiere que aún poseen alelos recesivos que pueden complementarse con los alelos dominantes favorables para alto rendimiento.

También, se observó que la mayoría de las cruzas más rendidoras fue el resultado de cruzar líneas de Alta ACG provenientes de México Grupo 10 × líneas de Baja ACG provenientes de Xolache Original, lo cual muestra la importancia de la divergencia genética de los progenitores para la heterosis de la craza, aunque no todas las cruzas combinadas de esta manera mostraron la misma respuesta, entonces se deben considerar otros aspectos. Al respecto, Moll *et al.* (1965) señalan que en la medida en que la divergencia entre progenitores sea mayor, también lo será la heterosis, pero existe un grado óptimo donde esta puede ser máxima porque si la divergencia es extremadamente grande, entonces la heterosis será reducida (Hallauer *et al.*, 2010). De ahí la importancia de definir el patrón heterótico, es decir, el par de grupos heteróticos complementarios que al cruzarse produzcan descendencia que exhiba una alta heterosis y un excelente desempeño de sus híbridos (Melchinger y Gumber, 1998).

Además de lo anterior, se hallaron dos puntos intrigantes: de las cruzas Alta x Baja ACG más rendidoras en el 2011, no todas se mantuvieron como las mejores en el 2012 ni tampoco en el 2013, y los rendimientos obtenidos en cada año discreparon en forma sustancial. Esto se atribuyó a las condiciones ambientales cambiantes de un ciclo a otro y sus efectos sobre los genotipos, lo cual se comprobó con el análisis combinado.

En el análisis combinado a través de ambientes para el rendimiento de mazorca (Cuadro II.4) se detectó significancia alta ( $p \leq 0.01$ ) entre ambientes, entre genotipos, y en la interacción genotipos × ambiente (IGA). El coeficiente de variación resultó de magnitud aceptable, lo cual fue un indicador de la confiabilidad de la información.

**Cuadro II.4.** Análisis de varianza combinado para el rendimiento de 24 cruzas simples de líneas de maíz contrastantes en ACG, evaluadas en tres ambientes.

FV	GL	SC	CM
Amb	2	150029.35	75014.68**
Rep (Amb)	6	3097.14	516.19ns
Genotipos	23	61102.60	2656.63**
Amb × Gen	46	34870.98	758.06**
Error	138	34646.56	251.06
C.V. (%)	21.42		
Rend Media	73.97		

GL = Grados de libertad; Rend = Rendimiento de mazorca por planta; \*\* ( $p \leq 0.01$ ); ns = no significativo.

Debido a que los resultados del análisis combinado mostraron significancia alta para la fuente de variación Genotipo × Ambiente, fue recomendable la aplicación del análisis de estabilidad de las cruzas. Al respecto, el Cuadro II.5 muestra el análisis de varianza proporcionado por el modelo AMMI para estabilidad. Este análisis detectó significancia alta ( $p \leq 0.01$ ) entre ambientes, entre genotipos, y en la interacción genotipo × ambiente. Dentro de la interacción, solo los efectos del CP1 resultaron con alta significancia.

**Cuadro II.5.** Análisis de varianza para rendimiento de 24 cruzas simples evaluadas en tres ambientes, según modelo AMMI.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	
Rep	2	2162.79	1081.40*	
Amb	2	150029.35	75014.68**	
Genotipo	23	61102.60	2656.63**	
Amb × Gen	46	34870.98	758.06**	
	CP1	24	30206.72	1258.61**
	CP2	22	4664.26	212.01ns
Error	142	35580.91	250.57	
Total	215	283746.63		
C.V. (%)	21.40			
Rend Media	73.97			

GL = Grados de libertad; Rend = Rendimiento de mazorca por planta; \*\* ( $p \leq 0.01$ ); ns = no significativo; CP1 = Componente Principal 1; CP2 = Componente Principal 2.

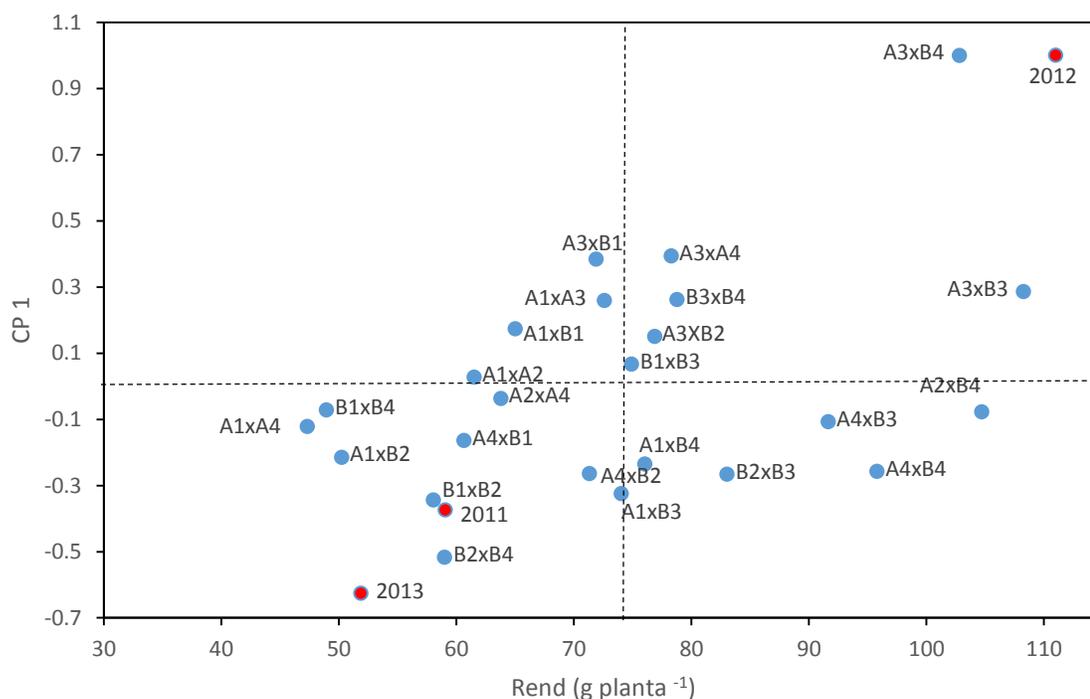
En el Cuadro II.6 se muestra la información de los rendimientos de mazorca en promedio de genotipos y de ambientes, así como también del CP1 y CP2. Para los genotipos los valores del CP1 variaron de -0.52 a 1, y para los ambientes de -0.63 a 1; en el CP2 los valores de genotipos fueron de -0.60 a 0.30 y para ambientes de -0.5 a 0.59.

**Cuadro II.6.** Rendimientos promedios de mazorca por planta y componentes principales (CP1 y CP2) de las 24 cruzas simples de maíz y tres ambientes de evaluación, según modelo AMMI.

		<b>Rend (g planta<sup>-1</sup>)</b>	<b>CP1</b>	<b>CP2</b>
GEN	A1 × A2	61.52	0.03	-0.08
GEN	A1 × A3	72.58	0.26	-0.05
GEN	A1 × A4	47.31	-0.12	0.20
GEN	A1 × B1	65.00	0.17	0.17
GEN	A1 × B2	50.22	-0.21	-0.09
GEN	A1 × B3	74.02	-0.32	0.27
GEN	A1 × B4	76.05	-0.23	0.29
GEN	A2 × A4	63.78	-0.04	0.00
GEN	A2 × B4	104.71	-0.08	-0.60
GEN	A3 × B2	76.88	0.15	0.14
GEN	A3 × A4	78.29	0.39	0.30
GEN	A3 × B1	71.90	0.38	-0.12
GEN	A3 × B3	108.27	0.29	0.03
GEN	A3 × B4	102.81	1.00	-0.06
GEN	A4 × B1	60.65	-0.16	-0.06
GEN	A4 × B2	71.32	-0.26	0.17
GEN	A4 × B3	91.64	-0.11	0.18
GEN	A4 × B4	95.80	-0.26	-0.22
GEN	B1 × B2	58.03	-0.34	-0.06
GEN	B1 × B3	74.89	0.07	-0.27
GEN	B1 × B4	48.93	-0.07	0.10
GEN	B2 × B3	83.03	-0.27	-0.17
GEN	B2 × B4	59.00	-0.52	-0.04
GEN	B3 × B4	78.77	0.26	-0.03
AMB	2011	59.05	-0.37	0.59
AMB	2012	111.01	1.00	-0.09
AMB	2013	51.86	-0.63	-0.50

La cruce A2 × A4 presento un menor efecto de interacción, indicado por sus valores de -0.04 en CP1 y 0.00 en CP2 que fueron los más cercanos a cero, por lo tanto, se considera la más estable a través de ambientes (Medina *et al.*, 2002), pues es la que menos aportó a los dos ejes de interacción. Los resultados del Cuadro II.6 pudieron ser mejor visualizados a través de gráficos biplots (Figuras II.1 y II.2).

La Figura II.1 muestra la información del rendimiento promedio y el valor del CP1 para cruzas y ambientes, de acuerdo con la interpretación del biplot (Zobel *et al.*, 1988), el ambiente donde se alcanzaron los rendimientos más altos fue el del ciclo del 2012.



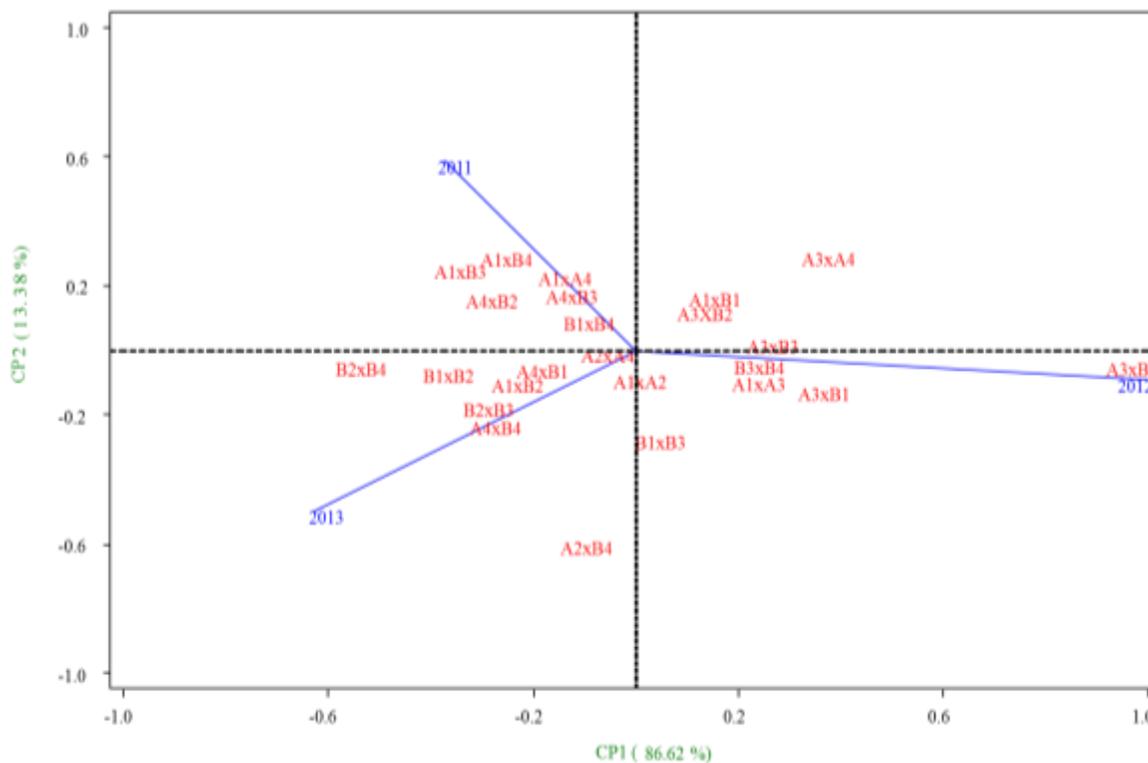
**Figura II.1.** Gráfico de doble entrada del rendimiento promedio y el CP1, según modelo AMMI, de 24 cruzas simples de líneas de maíz contrastantes en ACG evaluadas en tres ambientes.

El ciclo de evaluación 2012 tuvo lugar en la localidad de Montecillo, donde las líneas y las cruzas simples fueron obtenidas, por lo que los materiales están más adaptados a las condiciones ambientales prevalecientes en el lugar, aunque si en el 2011 no se consiguió el mismo resultado en Montecillo fue porque se presentó una helada temprana que afectó la evaluación de los genotipos, pues algunos de ellos, sobre todo los más tardíos (cruzas de Alta  $\times$  Alta y algunas cruzas de Baja  $\times$  Baja ACG) tuvieron un rendimiento bajo por efecto de la helada sobre los granos de la mazorca, los cuales se chuparon y perdieron peso. En cambio, cuando las condiciones fueron normales en la localidad, los materiales presentaron una buena respuesta. Esta respuesta también se vio alterada de manera no favorable al cambiar las cruzas a la localidad de Santa Lucía de Prías, causando baja en el rendimiento, pues en Santa Lucía las condiciones de evaluación fueron diferentes en cuanto a tipo de suelo, humedad, precipitación, plagas y enfermedades presentes, con respecto a Montecillo.

Asimismo, la cruz A3  $\times$  B3 tuvo el mayor rendimiento promedio, seguido por las cruzas A2  $\times$  B4 y A3  $\times$  B4, mientras que la cruz A1  $\times$  A4 tuvo el menor rendimiento. Por otra parte, los genotipos y ambientes que tuvieron valores altos positivos o negativos del CP1 presentaron una alta IGA, por lo tanto, la cruz de mayor IGA fue A3  $\times$  B4, que aunada al año de evaluación 2012 contribuyeron en mayor grado a la interacción genotipo por ambiente para rendimiento, contrariamente las cruzas que tuvieron menor IGA fueron A1  $\times$  A2, A2  $\times$  A4, B1  $\times$  B3 y A2  $\times$  B4.

En el gráfico de doble entrada de la Figura II.2 se muestra que el CP1 explicó el 86.6 % de la variabilidad total y el CP2 el 13.4 %, donde la suma es el 100 % de variación total. El casi 87

% de explicación de la interacción genotipo  $\times$  ambiente por parte del CP1, significó un parámetro válido para el estudio de estabilidad del rendimiento de las cruzas simples evaluadas, pues Frontier (1976), citado por Medina (2002), menciona que para probar que el CP1 explica claramente la varianza total de los tres ambientes, la varianza acumulada debe ser de 37.04 %.



**Figura II.2.** Gráfico de doble entrada de los dos primeros componentes principales para cruzas y ambientes, según modelo AMMI.

De acuerdo con Yan *et al.* (2000) para la interpretación del biplot del CP1 con CP2, los años 2011 y 2013 al formar un ángulo menor a  $90^\circ$  entre sus vectores, significa que ambos ambientes clasifican a los genotipos de manera semejante. Esto pudo ser atribuido a que en ambos ciclos

hubo condiciones ambientales adversas a las cuales los materiales no respondieron de manera favorable, y eso se vio reflejado en el detrimento del rendimiento para los dos años.

Contrariamente, entre los ambientes 2012 y 2011, y entre 2013 y 2012 los ángulos formados fueron mayores a 90°, indicando que fueron totalmente contrastantes. Los años 2011 y 2012, aunque tuvieron la misma localidad (Montecillo), las condiciones ambientales que se presentaron fueron muy distintas, pues en 2011 el estrés que causó la incidencia de una helada temprana demeritó el rendimiento de las cruzas, y en el siguiente no hubo condiciones severas que estresaran a los materiales, por eso en 2012 las cruzas rindieron más y pudieron expresar mejor su potencial de rendimiento. Para el comportamiento de las cruzas en las evaluaciones de los años 2012 y 2013, las diferencias entre sus rendimientos podrían ser atribuidas al distinto año de evaluación y al cambio de localidad, pues en el primero éstas fueron evaluadas en Montecillo, y en el segundo en Santa Lucía, y se da por hecho que las condiciones ambientales fueron muy distintas entre los sitios, aun cuando la distancia física entre ambas localidades no es grande. Ambos resultados concuerdan con Kang (1993), quien señala que los genotipos evaluados en diferentes localidades o años frecuentemente tienen fluctuaciones en rendimiento, debido a la respuesta del genotipo a efectos de factores ambientales, tales como fertilidad del suelo o la presencia de estreses ambientales bióticos o abióticos.

Se observó también en el biplot que, indicado por la longitud del vector, el ambiente con mayor poder discriminatorio entre cruzas fue el 2012, y fue el único que se localizó sobre valores positivos del CP1. Asimismo, las cruzas con ubicación cercana al origen de los ejes tuvieron poca contribución a la IGA y son consideradas como más estables, en relación a las

más alejadas; consecuentemente, el genotipo más estable a través de ambientes fue la cruza A2 × A4, entonces se pudiera recomendar que cuando se desee producir un material en diversos ambientes, se utilice una cruza de A x A, lamentablemente aunque esta fue estable, no fue rendidora e incluso estuvo por debajo de la media del rendimiento.

El biplot de la Figura II.2 también muestra la asociación entre las cruzas simples y los ambientes evaluados; de acuerdo con Eeuwijk (2006), un ángulo menor de 90° o mayor de 270° entre el vector de un cultivar y un vector de sitio significa que el cultivar tiene una respuesta positiva al sitio de prueba, y que una respuesta negativa es indicada con ángulos mayores de 90° y menores de 270°. Por lo tanto, pudo observarse que la cruza que mostró el máximo desempeño en el ambiente 2011 fue A1 × A4, aunque las cruzas A4 × B3 y B1 × B4 también mostraron un buen comportamiento y por tanto adaptación y adaptabilidad; en el 2012 la cruza con mejor adaptabilidad fue A3 × B4, pero A3 × B3 y B3 × B4 también tuvieron buena adaptabilidad; en el 2013 A2 × A4 fue la de mejor comportamiento, pero A4 × B4 y B2 × B3 también mostraron adaptabilidad. Esto indicó que la adaptación y adaptabilidad de la cruza tiene un papel crucial en su desempeño para rendimiento, además de la ACG alta o baja de las líneas progenitoras.

Con los resultados del genotipo estable y el adaptado mostrando adaptabilidad, se pudo observar que la cruza de Alta × Alta al explotar solo a los efectos aditivos, éstos fueron más conservados a través de ambientes y por lo tanto le permiten la estabilidad al genotipo, aunque no fue mostrado en todas las cruzas de este tipo; y que las cruzas Alta × Baja al explotar efectos aditivos y no aditivos (de dominancia y epistasis), no todos se conservaron al pasar de un

ambiente a otro por no ser heredables y por la baja endogamia de algunas líneas, entonces solamente se expresaron en los ambientes en que el genotipo tuvo la habilidad para adaptarse.

Con todo lo antes expuesto, se comprueba que diversos factores son importantes para la expresión de la heterosis para rendimiento, lo cual concuerda con Cress (1966), quien consideró principalmente a los efectos genéticos, tales como la acumulación de efectos aditivos, la presencia de efectos de dominancia y sobredominancia, la presencia de efectos epistáticos, además de la divergencia genética, y la interacción genotipo ambiente.

Finalmente, al comparar las cruzas simples con testigos comerciales (Cuadro II.7), los híbridos que tuvieron el mayor rendimiento de mazorca por planta fueron: para el ambiente de evaluación 2012, el híbrido trilineal HS2 que tuvo el promedio más alto, pero sin diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) con tres cruzas simples de Alta  $\times$  Baja y una de Alta  $\times$  Alta ACG; para el ambiente de evaluación 2013, los cuatro híbridos comerciales utilizados y tres cruzas simples de Alta  $\times$  Baja ACG tuvieron los mejores promedios sin diferencias significativas ( $p > 0.05$ ).

Aunque el objetivo de la presente investigación no fue liberar híbridos comerciales, se encontraron cruzas simples que tuvieron la capacidad de igualar en rendimiento a los híbridos testigos bajo las mismas condiciones para su desarrollo en campo. Del total de cruzas simples evaluadas en 2012 cuatro resultaron híbridos promisorios, sin embargo, al cambiarlos de localidad en 2013, solo dos mantuvieron su buena respuesta. Como se ha expuesto en párrafos anteriores, esto está en función de la adaptación del genotipo al ambiente. Por lo tanto, lo

recomendable es utilizar híbridos de cruce simple provenientes de líneas de Alta × Baja ACG para ambientes específicos.

**Cuadro II.7.** Comparación de medias para rendimiento de mazorca por planta ( $\text{g planta}^{-1}$ ) de los mejores híbridos, evaluados en 2012 y 2013.

<b>Año</b>	<b>Genotipo</b>	<b>Rend (<math>\text{g planta}^{-1}</math>)</b>	<b>t <math>\text{ha}^{-1}</math></b>
2012	HS2	201.64a	10.9
	A3xB4	191.99ab	10.4
	A3xB3	159.99a...c	8.7
	A2xB4	140.55a...d	7.6
	A3xA4	134.31a...e	7.3
2013	HS2	116.35a	6.3
	Buho	102.56ab	5.6
	A2X B4	100.48ab	5.4
	A4xB4	87.82a...c	4.8
	Promesa	80.45a...d	4.4
	San José	77.08a...e	4.2
	A3xB3	76.12a...e	4.1

## CONCLUSIONES

Las cruzas simples de Alta  $\times$  Baja ACG resultaron más rendidoras que las de Alta  $\times$  Alta y Baja  $\times$  Baja, pues en ello interactuaron factores genéticos como la acumulación de efectos aditivos, la presencia de efectos de dominancia y epistasis, debido al grado de endogamia de las líneas, la divergencia genética entre líneas, y su ACG contrastante, además del factor ambiental en su interacción con el genotipo de las cruzas.

El ambiente que propició el mayor rendimiento de las cruzas fue el ciclo de evaluación del año 2012, discrepó con los otros dos ambientes evaluados, contribuyó mayormente a la interacción  $G \times A$ , y fue el ambiente que mejor discriminó a los materiales; asimismo, la crua de mayor interacción fue A3  $\times$  B4. Se encontró a una crua de Alta  $\times$  Alta ACG como la más estable a través de ambientes, pero no fue la misma situación para todas las cruzas de este tipo; hubo cruzas de Baja  $\times$  Baja ACG que tuvieron mejor o igual nivel de estabilidad que cruzas de Alta  $\times$  Baja y Alta  $\times$  Alta.

Se encontró que la adaptación de cruzas por cada ambiente fue diferente; así, el ciclo de 2011 tuvo cruzas de Alta  $\times$  Alta, Alta  $\times$  Baja y Baja  $\times$  Baja; el ciclo 2012 tuvo de Alta  $\times$  Baja y Baja  $\times$  Baja; y el ciclo 2013 de Alta  $\times$  Alta, Alta  $\times$  Baja y Baja  $\times$  Baja ACG. Tales resultados indicaron que la adaptación y adaptabilidad de la crua juegan un papel crucial para el desempeño de su rendimiento, además de la aptitud combinatoria general de sus líneas progenitoras.

Dos cruzas simples de Alta  $\times$  Baja ACG ( $A_2 \times B_4$  y  $A_3 \times B_3$ ) tuvieron la capacidad de igualar en rendimiento a los mejores híbridos testigos bajo las mismas condiciones para su desarrollo en los dos ambientes en que se evaluaron, lo que adicionalmente prueba la importancia genética del germoplasma evaluado para programas de mejoramiento.

## BIBLIOGRAFÍA

**Allard R. W. and P. E. Hansche (1964)** Some parameters of population variability and their implications in plant breeding. *Advances in Agronomy* 16:281-325.

**Cress C. E. (1966)** Heterosis of the hybrid related to gene frequency differences between two populations. *Genetics* 53:269-274.

**Eeuwijk F. A. van (2006)** Genotype by environment interaction: basics and beyond. *In: Plant Breeding: The Arnell R. Hallauer International Symposium on Plant Breeding*. 2003 México City. Lamkey K. R. and M. Lee (eds.). Blackwell Publishing. Ames, Iowa. 155-170 pp.

**Escorcia-Gutiérrez N., J. D. Molina-Galán., F. Castillo-González y J. A. Mejía-Contreras (2010)** Rendimiento, heterosis y depresión endogámica en cruzas simples de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana* 33:271-279.

**Falconer D. S. y T. F. C. Mackay (2006)** Introducción a la Genética Cuantitativa. Acribia S. A. Zaragoza, España. 469 p.

**Gauch H. G. (1988)** Model selection and validation for yield trials with interaction. *Biometrics* 44:705-715.

**Gordón-Mendoza R., I. Camargo-Buitrago, J. Franco-Barrera y A. González-Saavedra (2006)** Evaluación de la adaptabilidad y estabilidad de 14 híbridos de maíz, Azuero, Panamá. *Agronomía Mesoamericana* 17:189-199.

**Hallauer A. R., M. J. Carena and J. B. Miranda Filho (2010)** Quantitative Genetics in Maize

Breeding. Springer New York. N. Y., USA. 663 p. doi:10.1007/978-1-4419-0766-0

- Jonhson I. J. and H. K. Hayes (1940)** The value in hybrid combinations of inbred lines of corn selected from single crosses by the pedigree method of breeding. *Journal of the American Society of Agronomy* 32:479-485.
- Kandus M., D. Almorza, R. Boggio Ronceros and J. C. Salerno (2010)** Statistical models for evaluating the genotype-environment interaction in maize (*Zea mays* L.). *PHYTON International Journal of Experimental Botany* 79:39-46.
- Kang M. S. (1993)** Simultaneous selection for yield and stability in crop performance trials: consequences for growers. *Agronomy Journal* 85:754-757.
- Lippman Z. B. and D. Zamir (2007)** Heterosis: revisiting the magic. *Trends in Genetics* 23:60-66. doi:10.1016/j.tig.2006.12.006
- Lobato-Ortiz R., J. D. Molina-Galán, J. J. López-Reynoso, J. A. Mejía-Contreras, y D. Reyes-López (2010)** Criterios para elegir el mejor probador de la aptitud combinatoria general para rendimiento de grano de líneas autofecundadas de maíz. *Agrociencia* 44:17-30.
- Márquez S. F. (1988)** Genotecnia Vegetal. Métodos, Teoría, Resultados. Tomo II. AGT Editor S. A. 665 p.
- Medina S., C. Marín R., V. Segovia, A. Bejarano, Z. Venero, R. Ascanio y E. Meléndez (2002)** Evaluación de la estabilidad del rendimiento de variedades de maíz en siete localidades de Venezuela. *Agronomía Tropical* 52:255-275.
- Melchinger A. E. and R. K. Gumber (1998)** Overview of heterosis and heterotic groups in agronomic crops. In: Concepts and Breeding of Heterosis in Crop Plants. Lamkey K. R. and J. E. Staub (eds). Madison, Wisconsin. 29-44 pp.
- Moll R. H., J. H. Lonquist, J. Vélez Fortuno and E. C. Johnson (1965)** The relationship of heterosis and divergence in maize. *Genetics* 52:139-144.

- Oyekunle M., B. Badu-Apraku, S. Hearne, J. Franco (2015)** Genetic diversity of tropical early-maturing maize inbreds and their performance in hybrid combinations under drought and optimum growing conditions. *Field Crops Research* 170:55-65. doi:10.1016/j.fcr.2014.10.005
- Poehlman J. M. y D. S. Allen (2003)** Mejoramiento Genético de las Cosechas. 2da. Ed. Editorial Limusa. México. 511 p.
- Reyes L. D., J. D. Molina G., M. A. Oropeza R. y E. del C. Moreno P. (2004)** Cruzas dialélicas entre líneas autofecundadas de maíz derivadas de la raza Tuxpeño. *Revista Fitotecnia Mexicana* 27:49-56.
- Rossi R. R. and G. Benin (2012)** Biplot analysis: concepts, interpretations and uses. *Ciência Rural* 42:1404-1412.
- SAS Institute (2002)** User's Guide of SAS (Statistical Analysis System). SAS Institute Inc. Cary, N. C. USA. 550 p.
- Sprague G. F. and L. Tatum (1942)** General vs specific combining ability in single-crosses of corn. *Journal American Society Agronomy* 34:923-932.
- Yan W., L. A. Hunt, Q. Sheng and Z. Szlavnics (2000)** Cultivar evaluation and mega-environment investigation based on the GGE biplot. *Crop Science* 40:597-605. doi:10.2135/cropsci2000.403597x
- Zobel R. W., M. J. Wright and H. G. Gauch (1988)** Statistical analysis of a yield trial. *Agronomy Journal* 80:388-393. doi:10.2134/agronj1988.00021962008000030002x

# **CAPÍTULO III. PREDICCIÓN GENÓMICA DE LA ACG DE LÍNEAS DE MAÍZ Y DEL RENDIMIENTO DE SUS CRUZAS SIMPLES**

## **RESUMEN**

En los programas de mejoramiento genético de maíz (*Zea mays* L.) híbrido en México, es importante contar con metodologías genómicas que aceleren los procedimientos tradicionales de la hibridación. Las metodologías genómicas podrían usarse para conocer la ACG de líneas y la predicción del rendimiento de sus cruzas. El objetivo del presente estudio fue analizar la efectividad de la metodología de selección genómica (SG) para predecir la ACG de líneas autofecundadas de maíz y el rendimiento de sus cruzas simples, usando GBS SNPs. Se emplearon ocho líneas de maíz Chalqueño S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>, S<sub>4</sub>, y S<sub>11</sub>; 24 de sus 28 cruzas simples posibles fueron evaluadas en dos localidades de 2011 a 2013. En las líneas se realizó la clasificación de su ACG en alta y baja, y en sus cruzas simples se evaluó la precisión de la predicción del rendimiento utilizando “GBS” (Genotyping-By-Sequencing) de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs). Se usó el Mejor Predictor Lineal Inssegado para predecir valores fenotípicos y se aplicó el método de validación cruzada para cuantificar la precisión de la predicción usando como criterio el coeficiente de correlación de Pearson. La habilidad predictiva del modelo varió de 0.54 a 0.67. La SG mostró ser un método eficiente para conocer la ACG de las líneas, esto con base en diferencias a nivel molecular, siendo posible corroborar la ACG de cada una de ellas, la cual fue previamente determinada por la pruebas de mestizos en campo. El uso de GBS, la cercanía de las relaciones genéticas entre líneas, y los componentes del modelo utilizado, contribuyeron a obtener una predicción efectiva para cruzas evaluadas y no evaluadas en campo, pese a que el modelo no incluyó el componente interacción Genotipo × Ambiente, a la baja heredabilidad del rendimiento y a la baja endogamia de la mayoría de las líneas.

**Palabras clave:** *Zea mays* L., Selección Genómica, GBS SNPs, líneas autofecundadas, raza Chalqueño.

## **GENOMIC PREDICTION OF THE GCA IN INBRED LINES OF MAIZE AND THE YIELD OF THEIR SINGLE CROSSES**

### **SUMMARY**

In hybrid maize (*Zea mays* L.) breeding programs in Mexico, it is important to have genomic methodologies in order to accelerate the hybridization traditional methods. Genomic procedures could be used to reveal the GCA of inbred lines and predict the yield of their single crosses. The aim of this study was to analyze the genomic selection (GS) effectiveness to predict the GCA of inbred lines and the yield of their single crosses by means of GBS SNPs. Eight S2, S3, S4, and S11 inbred lines of Chalqueño maize along with twenty-four of their 28 possible single crosses were evaluated at two locations from 2011 to 2013. The lines were classified as being of high or low GCA, and in their single crosses it was evaluated the yield prediction accuracy using Genotyping-By-Sequencing (GBS) of single nucleotide polymorphisms (SNPs). The best linear unbiased predictor was used to predict phenotypic values, and the crossed validation method was applied to quantify the prediction accuracy using the Pearson correlation coefficient as criterion. The predictive ability of the model ranged from 0.54 to 0.67. Genomic selection shown to be a highly efficient procedure in classifying the parental lines as being of high or low ACG based on their differences at the molecular level, and this corroborated the GCA of each of them, which was previously known by the top-cross evaluations at field. The GBS, the closeness of the genetic relationships between the inbred lines and the components of the genomic prediction model used, contributed to obtain a good prediction for both crosses

evaluated and unevaluated at field. This despite the fact that the model did not include the Genotype  $\times$  Environment component, the yield heritability was low, and the low inbreeding in most of the parental lines

**Keywords:** *Zea mays* L., Genomic Selection, GBS SNPs, inbred lines, Chalqueño race.

## INTRODUCCIÓN

En los programas de mejoramiento de maíz (*Zea mays* L.) para obtener híbridos más rendidores, se requiere evaluar diversas líneas y numerosas cruzas a través de varios ambientes, lo cual es económicamente inviable e impráctico cuando el número de progenitores y de cruzas a evaluar es grande, por lo que es posible que algunos de los materiales nunca se prueben en campo, causando la pérdida de genotipos con alto potencial genético. Por tal motivo es importante contar con procedimientos que permitan predecir la ACG de líneas y el rendimiento de cruzas sin tener que hacer su evaluación en campo. En este sentido, las herramientas genómicas como el GBS pueden ser útiles para obtener una alta precisión en la predicción e incluso para decidir qué materiales evaluar en campo.

La selección genómica (SG) es una estrategia que busca mejorar la predicción de características agronómicas complejas utilizando marcadores genéticos posicionados en el genoma completo, como los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) (Meuwissen *et al.*, 2001). La predicción genómica del rendimiento de maíz híbrido permite identificar a híbridos promisorios cuando estos, u otros producidos a partir de sus progenitores, no fueron evaluados en campo (Technow, 2012). Las cruzas simples pueden ser usadas como una población de

entrenamiento para seleccionar a las mejores líneas dentro de cruzas  $A \times B$ ; y con los efectos de marcadores en su genoma completo se pueden identificar a las mejores cruzas antes de ser probadas en campo (Massman *et al.*, 2013).

El rendimiento de grano de híbridos de maíz se puede predecir con alta precisión utilizando algún modelo de predicción genómica (Zhao *et al.*, 2012; Melo *et al.*, 2014). Bernardo (1994) propuso el Mejor Predictor Lineal Inssegado (BLUP) para predecir el rendimiento de cruzas simples con base en datos fenotípicos y de marcadores moleculares; utilizó un modelo mixto lineal en el que consideró la aptitud combinatoria general y específica de los materiales; comprobó la robustez del método cuando los progenitores de una crusa simple no han sido probados (Bernardo, 1996b). Massman *et al.* (2013) utilizaron el modelo de Bernardo (1996a) y la Regresión Ridge (RR-BLUP) para incluir los efectos de los marcadores del genoma completo, concluyendo que no hubo diferencias entre modelos.

La precisión de la predicción genómica es evaluada mediante validación cruzada de k-grupos (Schulz-Streeck *et al.*, 2012) y la correlación entre valores genéticos predichos y verdaderos (Estaghvirou *et al.*, 2013). Ésta es mayor con un modelo multiambiental que con uno de un solo ambiente (Guo *et al.*, 2013) y depende de otros factores, entre ellos: heredabilidad de la característica de interés (Windhausen, 2013), interacción genotipo por ambiente ( $G \times A$ ) (Schulz-Streeck *et al.*, 2013), desequilibrio de ligamiento (Crossa *et al.*, 2013), relación entre individuos (Crossa *et al.*, 2014), y la baja o alta densidad de marcadores (Zhang, *et al.*, 2014).

Una alta densidad de marcadores SNPs puede ser generada por medio de “GBS” (Genotyping-By-Sequencing) (Elshire *et al.*, 2011), un enfoque de tecnologías de próxima generación (NGS) que reduce la complejidad del genoma vía enzimas de restricción. El uso de GBS en los modelos de predicción de rendimiento de maíz ha demostrado alta precisión (Zhang *et al.*, 2014). Sin embargo, para la clasificación a nivel molecular de líneas de maíz contrastantes en ACG no hay reportes de que este procedimiento se haya utilizado.

En México no se han realizado estudios para la clasificación de la ACG de líneas de maíz ni de predicción del rendimiento de cruzas simples utilizando a la SG basada en GBS SNPs. Zhang *et al.* (2014) aplicaron la metodología a poblaciones biparentales de líneas altamente endogámicas para predecir rendimiento y obtuvieron buenos resultados; sin embargo, es importante investigar si ese éxito también se alcanza con materiales que en su genoma tienen mayor variación genética, como son las líneas parcialmente autofecundadas, y si es posible predecir la ACG de líneas a nivel molecular. Por lo tanto el objetivo del presente estudio fue analizar la efectividad de la metodología de selección genómica (SG) para predecir la ACG de líneas autofecundadas de maíz y del rendimiento de sus cruzas simples, usando GBS SNPs.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Material biológico**

Se emplearon ocho líneas autofecundadas de maíz de aptitud combinatoria general alta (A1, A2, A3, A4) y baja (B1, B2, B3, B4) (Cuadro III.1), derivadas de los compuestos varietales de

la raza Chalqueño: Xolache Original, Xolache SM<sub>6</sub> (Compuesto de selección masal 6) y México Gpo. 10 Original.

**Cuadro III.1.** Genealogía de las ocho líneas progenitoras de las cruzas.

Línea	Genealogía	(S <sub>n</sub> )
A1	Xolache (SM <sub>6</sub> )-4-1-1	(S <sub>3</sub> )
A2	Xolache (Orig.)-112-1 (9)-1	(S <sub>11</sub> )
A3	Méx. Gpo.10 (Orig.)-6-1-1	(S <sub>3</sub> )
A4	Méx. Gpo.10 (Orig.)-13-1-1	(S <sub>3</sub> )
B1	Méx. Gpo.10 (Orig.)-15-1	(S <sub>2</sub> )
B2	Méx. Gpo.10 (Orig.)-146-1-1	(S <sub>3</sub> )
B3	Xolache (Orig.)-67-1 (9)-1	(S <sub>11</sub> )
B4	Xolache (Orig.)-67-1 -1-1	(S <sub>4</sub> )

S<sub>n</sub> = línea de n autofecundaciones; 1 (9) = 1-1-1-1-1-1-1-1-1.

### Datos fenotípicos

Durante el ciclo primavera-verano 2011 y 2012 en el Campo Experimental Montecillo del Colegio de Postgraduados, y 2013 en el Campo Experimental Santa Lucia de Prías del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Estado de México, fueron evaluadas las 24 cruzas simples y seis de las ocho líneas progenitoras solo en 2012 y 2013. Se estableció un experimento bajo un diseño experimental de bloques completos al azar con tres repeticiones, con unidades experimentales constituidas por parcelas de dos surcos separados a 80 cm y 6 m de largo, conteniendo 13 matas de dos plantas por surco y 26 matas

por parcela. Se calculó el rendimiento de mazorca por planta (peso de mazorca por parcela/número de plantas por parcela) en g planta<sup>-1</sup>. Con los datos de rendimiento se obtuvo la distribución empírica. La heredabilidad en sentido amplio fue estimada para las líneas con base en Falconer y Mackay (2006),  $H^2 = \frac{\sigma^2_G}{\sigma^2_P}$ , donde  $\sigma^2_G$  es la varianza genotípica y  $\sigma^2_P$  es la varianza fenotípica.

### **Datos genotípicos**

En las ocho líneas autofecundadas del ciclo 2013 y sus compuestos progenitores se realizó la extracción de ADN de tejido foliar siguiendo el protocolo CTAB (CIMMYT, 2005), o de endospermo de acuerdo con el procedimiento CTAB-lauril sarcosyl (Gao *et al.*, 2008). Para el GBS se adoptó un sistema múltiple simple para la construcción de bibliotecas de representación reducida de la plataforma de secuenciación de próxima generación Illumina desarrollado en el laboratorio Ed Buckler (<http://www.igd.cornell.edu/index.cfm/page/GBS.htm>) siguiendo el protocolo GBS utilizado en maíz descrito por Elshire *et al.* (2011). El número de marcadores con el que se exploraron las muestras inicialmente fue de 955, 690 SNPs distribuidos sobre los 10 cromosomas de maíz de cada línea.

### **Pre-procesamiento**

Se utilizó TASSEL 3.0 (Zhang *et al.*, 2009) para la identificación de los SNPs, empleando el procedimiento descrito en <http://www.maizegenetics.net/tassel/docs/TasselPipelineGBS.pdf> para GBS. Para hacer la predicción utilizando solo a SNPs de alta calidad, se realizó un filtrado eliminando todos aquellos marcadores monomórficos y con frecuencia del alelo menor (MAF)  $\leq 0.05$ . Los valores faltantes fueron imputados utilizando las frecuencias alélicas observadas.

## Relación genética entre líneas

La matriz genómica ( $\mathbf{G}$ ) derivada de los datos GBS se obtuvo de acuerdo a VanRaden (2008), es decir,  $\mathbf{G} = \frac{\mathbf{X}\mathbf{X}'}{\sum_{j=1}^{N_M} 2q_j(1-q_j)}$ , donde  $\mathbf{X}$  es la matriz de marcadores moleculares centrada utilizando las frecuencias alélicas,  $q_j$  es la frecuencia alélica del marcador  $j = 1, \dots, N_M$  (marcadores).

## Predicción del rendimiento de híbridos

Para predecir el rendimiento de híbridos utilizando la información genotípica de los progenitores, se utilizó el modelo propuesto por Massman *et al.* (2013) con  $N_M$  marcadores, pero se excluyó a los efectos fijos de transgenes que ellos usaron:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}_0\boldsymbol{\beta} + \mathbf{W}_1\mathbf{m}_1 + \mathbf{W}_2\mathbf{m}_2 + \mathbf{W}_3\mathbf{m}_3 + \mathbf{e},$$

donde  $\mathbf{y}$  es un vector  $p \times 1$  del rendimiento de cruce simple observado;  $\boldsymbol{\beta}$  es vector  $c \times 1$  de efectos fijos;  $\mathbf{m}_1$  es un vector  $N_M \times 1$  de aptitud combinatoria general de efectos aleatorios de los marcadores de las líneas maternas,  $\mathbf{m}_2$  es un vector  $N_M \times 1$  de aptitud combinatoria general de efectos aleatorios de los marcadores de las líneas paternas y  $\mathbf{m}_3$  es un vector  $N_M \times 1$  de aptitud combinatoria de efectos aleatorios específicos para las cruces.  $\mathbf{W}_1, \mathbf{W}_2, \mathbf{W}_3$  son matrices de incidencia. Los elementos de las matrices de incidencia,  $\mathbf{W}_1, \mathbf{W}_2$  se establecieron igual a -1 (homocigoto recesivo) y 1 (homocigoto dominante). Se supone  $\mathbf{m}_1 \sim NM(\mathbf{0}, \sigma_{m1}^2 \mathbf{I})$ ,  $\mathbf{m}_2 \sim NM(\mathbf{0}, \sigma_{m2}^2 \mathbf{I})$ ,  $\mathbf{m}_3 \sim NM(\mathbf{0}, \sigma_{m3}^2 \mathbf{I})$ ,  $\mathbf{m}_1, \mathbf{m}_2, \mathbf{m}_3$  independientes. Debido al hecho de que la aptitud combinatoria específica es una interacción lineal  $\times$  lineal entonces los elementos de  $\mathbf{W}_3$  en un locus dado se obtienen con  $\mathbf{W}_1 \# \mathbf{W}_2$ , # denota el producto elemento a elemento.  $\mathbf{e}$  es un vector de errores aleatorios de dimensión  $p \times 1$  y se supone que  $\mathbf{e} \sim NM(\mathbf{0}, \sigma_e^2 \mathbf{I})$ .

La habilidad predictiva del modelo se determinó utilizando validación cruzada con 4 grupos; las 24 cruzas fueron divididas aleatoriamente en cuatro grupos con 6, 7, 5 y 6 cruzas por grupo, en cada análisis de validación 3 de los grupos formaron el conjunto de entrenamiento y el restante de validación. Se calcularon las correlaciones entre los valores observados y predichos para los tres años como la media ponderada de las correlaciones dentro de localidad, de acuerdo con el número de registros en cada ambiente. Los fenotipos de los híbridos no probados en campo se predijeron para los años 2011, 2012 y 2013; la localidad se incluyó en el modelo como un efecto fijo; y se calcularon los componentes de varianza.

### **Software**

Los análisis estadísticos fueron realizados usando el paquete estadístico R (R-Core Team, 2014), así como la librería de funciones BGLR (Pérez y de los Campos, 2014).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Datos fenotípicos**

La comparación de la distribución empírica del conjunto de datos de rendimiento con la normal teórica, indicó una distribución de la variable cercana a la normal; además hubo efecto ambiental a través de los años de evaluación sobre el valor de la variable (Anexo A).

### **Heredabilidad**

La heredabilidad en sentido amplio del rendimiento para las líneas progenitoras fue de 0.24 en el año 2012 y de 0.62 en 2013. La variación en el valor de la heredabilidad de un ambiente a

otro, pudo haber sido efecto de los factores ambientales, pues Zhang *et al.* (2014) encontraron una pobre heredabilidad en condiciones de estrés hídrico, que fue mayor en condiciones de buena humedad; y lo señalan como un efecto negativo en la precisión de la predicción, pues con un valor bajo de heredabilidad la precisión fue más baja y variable.

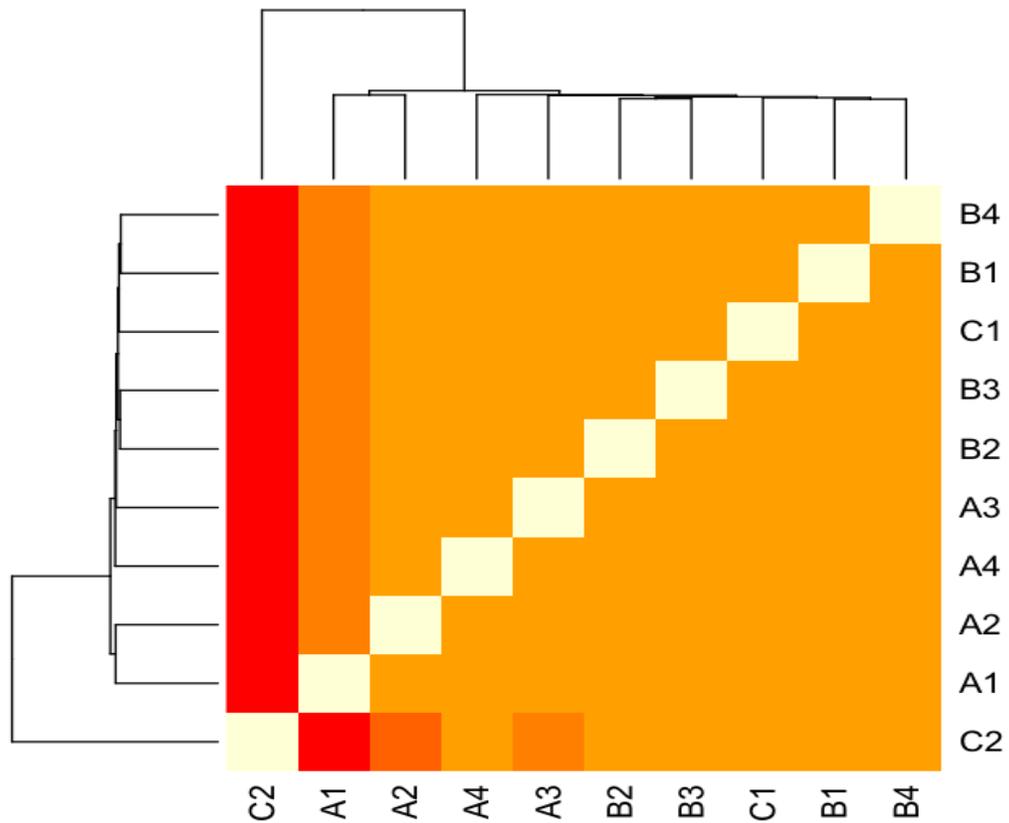
### **Datos GBS SNPs**

De los 955, 690 SNPs (Anexo B), el 45% fueron SNPs heterocigóticos. Al eliminar los marcadores monomórficos y aquellos con 100% de valores faltantes, se obtuvieron 389,588; finalmente se eliminaron marcadores con  $MAF \leq 0.05$ , quedando 328,127 marcadores que se utilizaron para el análisis de predicción de las seis líneas autofecundadas. En comparación, Zhang *et al.* (2014) encontraron 4.89% de heterocigosis y un número de marcadores que varió de 48662 a 78005 al utilizar la misma plataforma de GBS, pero en líneas puras elite de maíz.

El gran número de loci heterocigóticos encontrado podría ser desventajoso al realizar la imputación de datos, y esto afectaría al modelo de predicción, aún más porque la mayoría de las líneas utilizadas al ser no endogámicas, no son homocigóticas para la mayoría de los marcadores, pero la ventaja para superar tal inconveniente, fue que se usó una alta densidad de marcadores por medio de GBS, pues Hickey *et al.* (2012) mencionan que los modelos para SG no pueden hacer frente a los genotipos faltantes, y la imputación con plataformas de baja densidad es pobre porque segmentos grandes del cromosoma no están genotificados.

### Matriz genómica

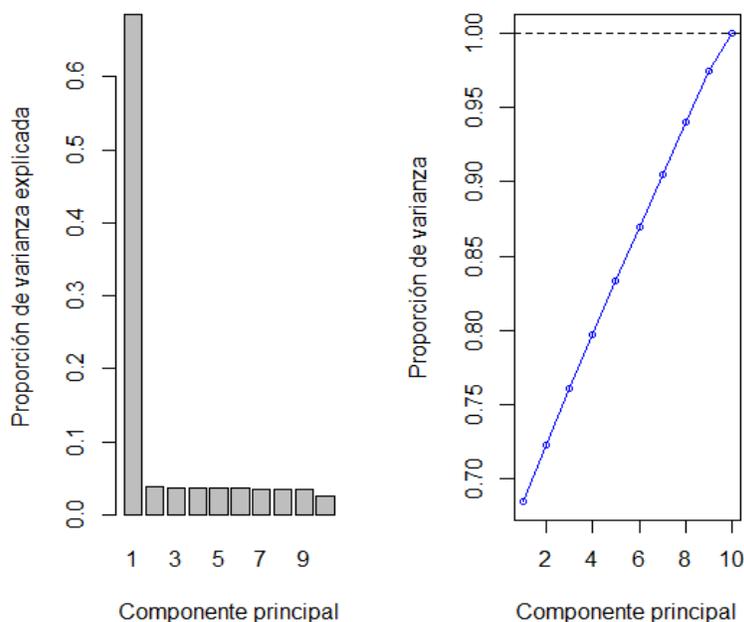
La relación entre los genotipos con base en la matriz genómica se muestra en la Figura III.1, puede observarse que en dicha relación existió un traslape de tres secciones indicadas por diferente color. El compuesto C2 y la línea A1 ligeramente se traslapan, y un grupo formado por A2, A4, A3, B2, B3, C1, B1, B4 a su vez está traslapado con A1. De acuerdo con Crossa *et al.* (2014), esto indica que tales subpoblaciones formadas están relacionadas y a su vez integran una población global.



**Figura III.1.** Matriz genómica basada en GBS SNPs de ocho líneas autofecundadas y dos compuestos de maíz Chalqueño.

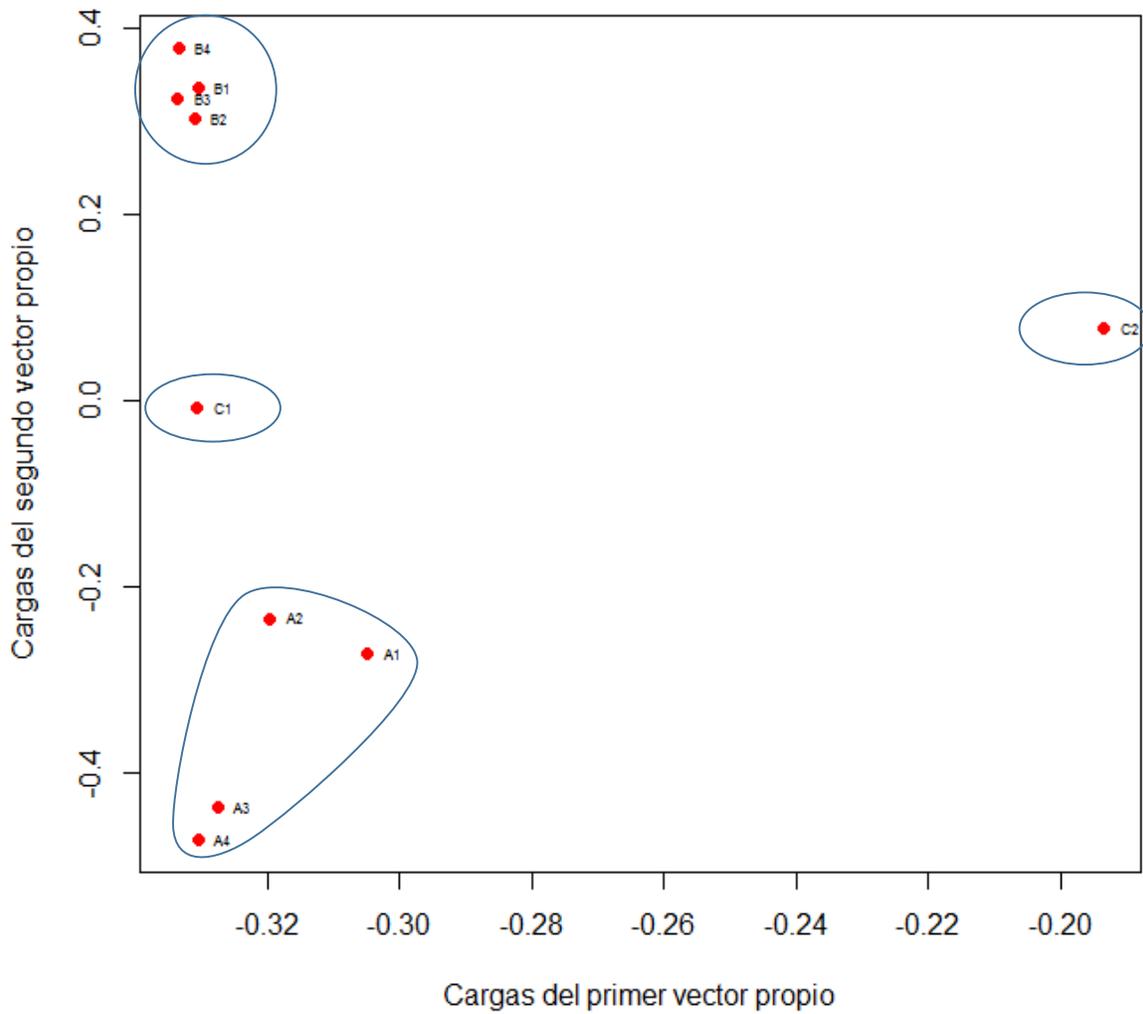
El hecho de que las líneas estén relacionadas es una ventaja que contribuye a alcanzar una predicción relativamente alta en una característica cuantitativa como el rendimiento. Al respecto, Crossa *et al.* (2014) señalan que la precisión de la predicción se reduce significativamente y hasta puede resultar insignificante si las subpoblaciones que se forman con base en la matriz genómica no están relacionadas.

De acuerdo a los resultados de la descomposición del valor singular de la matriz genómica, la Figura III.2 muestra la proporción de varianza explicada y la gráfica de sedimentación de los valores propios de la matriz  $G$ , indicando que el primer valor propio explica el 68.5 % de la varianza y el segundo el 3.8 %, juntos explicaron el 72 % de la varianza total.



**Figura III.2.** Proporción de varianza explicada y gráfica de sedimentación de los valores propios a partir de la matriz genómica.

La clasificación de los genotipos determinada por los dos primeros vectores propios de los valores propios provenientes de la descomposición de la matriz  $\mathbf{G}$ , evidenciaron la estratificación de los materiales de acuerdo con su aptitud combinatoria general (ACG) alta o baja (Figura III.3).



**Figura III.3.** Cargas de los dos primeros vectores propios para la clasificación de los genotipos en función de su ACG.

Se observó claramente la separación de grupos distintos; uno integrado por las líneas de baja ACG y otro por las líneas de alta ACG, a su vez los compuestos Xolache y México Grupo 10 se aislaron cada uno en diferente dirección y mostraron un efecto promedio entre los dos grupos formados por las líneas, dado que dentro de ellos existe información genética completa tanto para alta como para baja ACG.

Este resultado estuvo en concordancia con la clasificación fenotípica de los genotipos, que fue obtenida previamente a través de la evaluación de caracteres del rendimiento en campo y con base en el método de la prueba de mestizos (línea  $\times$  probador) para evaluar la aptitud combinatoria general y caracterizar a las líneas como de alta o baja ACG, proceso que requirió al menos 3 ciclos de cultivo de prueba; y que también es dependiente de la confiabilidad y eficiencia del probador, como lo señalan Lobato-Ortiz *et al.* (2010), del que es importante se disponga en un programa de mejoramiento genético clásico.

El uso del GBS SNPs mostró ser una estrategia efectiva para clasificar a los genotipos de acuerdo a su ACG, esto permitiría reducir el tiempo, recursos y costos requeridos por el método clásico de selección de líneas e hibridación, lo cual ofrece una gran ventaja para los programas de mejoramiento de maíz híbrido. Pues Bernardo (2001) enfatiza que el desarrollo de metodologías simples, rápidas y adecuadas para evaluar nuevas líneas ha sido un problema en la generación de híbridos con alto potencial productivo.

El resultado aquí obtenido es muy importante, pues el hecho de incluir líneas autofecundadas de ACG ya probada y conocida, indica con toda claridad que la ACG de líneas de maíz puede

medirse y predecirse molecularmente con GBS SNPs, y que los alelos de las plantas de alta ACG son molecularmente diferentes a los de las plantas de baja ACG. Así, por ejemplo, se propone que teniendo como población de referencia a las líneas de alta y baja ACG de este estudio en un programa de SG, se podrían identificar con toda claridad y facilidad líneas de alta ACG, o inclusive plantas de alto rendimiento, en maíz. Lo que faltaría por corroborar es si los alelos de alta ACG o los de alto rendimiento son universales en el genoma del maíz. Lo anterior facilitaría grandemente el mejoramiento genético molecular en maíz.

### Habilidad predictiva del modelo

Las correlaciones de las estimaciones de la habilidad predictiva obtenidas de validación cruzada se muestran en el Cuadro III.2.

**Cuadro III.2.** Correlaciones estimadas derivadas de la validación cruzada para tres ambientes (años) y su análisis combinado.

<b>Grupo</b>	<b>2011</b>	<b>2012</b>	<b>2013</b>	<b>Combinado</b>
1	0.87	0.38	0.54	0.53
2	0.56	0.58	0.22	-0.07
3	0.57	0.33	0.76	0.62
4	0.67	0.82	0.79	0.77
Promedio ponderado	0.67	0.54	0.55	0.43

En el 2011 tuvieron un rango de 0.56 a 0.87, en el 2012 de 0.33 a 0.82 y en 2013 de 0.22 a 0.79, y con promedio ponderado para los tres ambientes que vario de 0.54 a 0.67 y en un análisis combinado de 0.43. Aunque de alguna manera surgió incertidumbre debido al muestreo de entrenamiento-prueba, la precisa estimación de la habilidad predictiva se vio reflejada en el promedio de la habilidad obtenida en cada partición, como lo mencionan Pérez y de los Campos (2014).

La precisión de la predicción del modelo cambio a través de ambientes pero para todos fue alta, y a pesar de que la heredabilidad para los años 2012 y 2013 fue discrepante, los valores en precisión fueron muy parecidos, lo cual puede ser atribuido al uso de la GBS SNPs, pues Zhang *et al.* (2014) encontraron que se requieren marcadores de alta densidad para lograr una alta precisión de la predicción si la heredabilidad estimada es relativamente baja. Asimismo, Crossa *et al.* (2014) señalaron que la disminución del número de marcadores tiene un impacto negativo en la precisión de la predicción y este efecto es mucho más drástico en poblaciones de heredabilidad baja. Pero en esta investigación se observó que si se mantiene una alta densidad de marcadores SNPs, aunque la heredabilidad sea baja, la habilidad eficiente de la predicción no se altera.

Al respecto, Massman *et al.* (2013), obtuvieron correlaciones de 0.87 con este modelo, y la diferencia con las aquí encontradas puede deberse a que ellos emplearon 25 localidades de evaluación, lo que pudo disminuir el efecto ambiental. Burgueño *et al.* (2012) en líneas estrechamente relacionadas, con un modelo sin interacción encontraron correlaciones de 0.48, y utilizando uno con interacción de 0.56, este último resultado similar al que se encontró en el

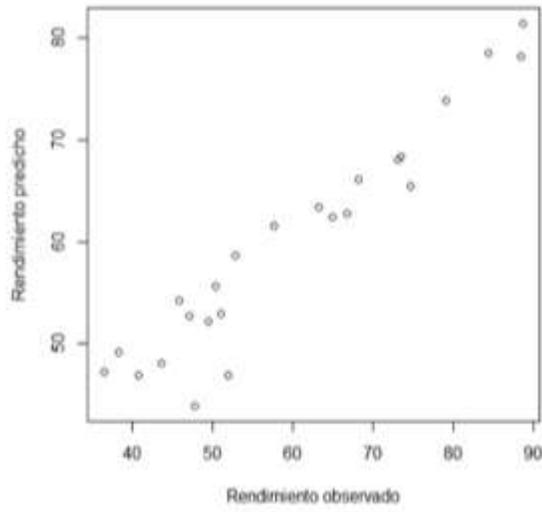
presente trabajo, lo cual refleja que el modelo aquí utilizado fue efectivo para la predicción del rendimiento de cruzas simples de líneas autofecundadas, y si en él se incluyeran términos de interacción  $G \times A$ , su precisión sería aún mejor.

Bernardo (1994) propuso este tipo de modelo porque las líneas progenitoras usadas en la predicción del rendimiento de cruzas simples están relacionadas, e indicó que la ventaja del modelo puede incrementar a medida que incrementa el grado de relación entre líneas. Jarquín *et al.* (2014) mencionan que las correlaciones predictivas pueden ser afectadas por la fuerza de relaciones genéticas entre líneas, de tal forma que al utilizar un modelo sin interacción  $G \times A$  para líneas que no están conectadas, las correlaciones de predicción serán bajas. En esta investigación, dado que las líneas están altamente relacionadas, al usar el modelo sin interacción las correlaciones predictivas no fueron estrictamente afectadas, puesto que sus promedios variaron de 0.54 a 0.67.

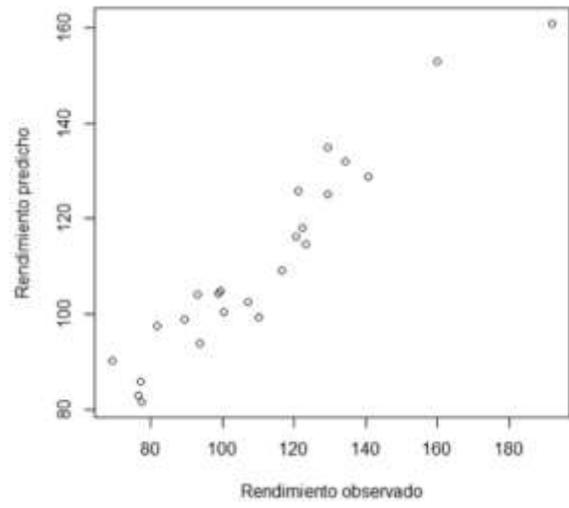
### **Predicción del rendimiento de cruzas**

La Figura III.4 muestra el ajuste del modelo para la predicción del rendimiento de cruzas evaluadas en campo con base en la información de la GBS SNPs. Los valores observados y predichos de las cruzas estuvieron en concordancia en cada uno de los ambientes, e incluso en el análisis combinado de los tres años de prueba, demostrando la predicción efectiva que proporcionó el modelo, lo cual fue la garantía para su aplicación en la predicción del rendimiento de cruzas que no se evaluaron en campo.

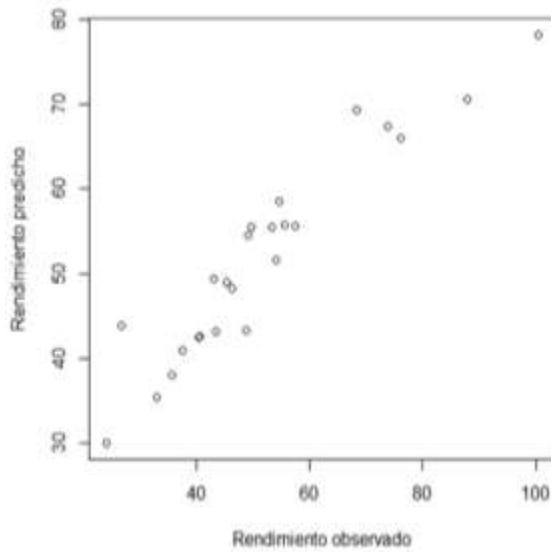
2011



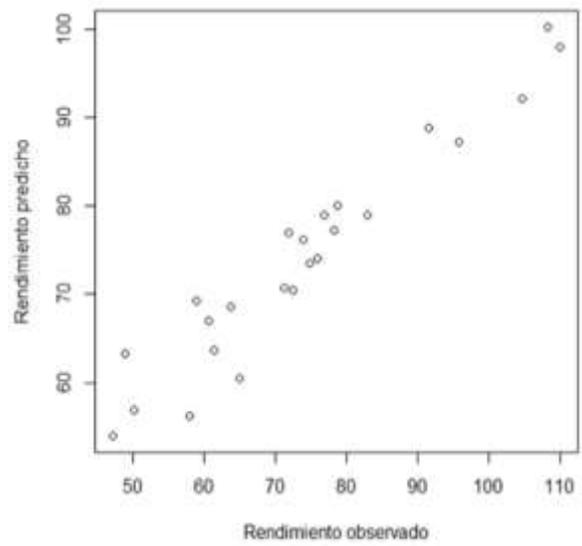
2012



2013



COMBINADO



**Figura III.4.** Ajuste del modelo para predicción del rendimiento de cruzas evaluadas en tres ambientes (años 2011-2013) y para el promedio de los tres años de prueba (combinado).

En el Cuadro III.3 se presenta la predicción del rendimiento de cruzas no evaluadas en cada uno de los años y para el análisis combinado de los tres ambientes, basada en el modelo propuesto.

**Cuadro III.3.** Rendimiento predicho y error estándar para cruzas no evaluadas en campo.

<b>Ambiente</b>	<b>Cruza</b>	<b>Predicción Rend (g planta<sup>-1</sup>)</b>	<b>Sd</b>
2011	A2 x A3	57.67	12.51
	A2 x B1	49.02	11.35
	A2 x B2	55.24	10.89
	A2 x B3	70.37	10.92
2012	A2 x A3	128.48	22.45
	A2 x B1	112.34	20.36
	A2 x B2	102.96	19.82
	A2 x B3	125.67	19.70
2013	A2 x A3	62.97	15.03
	A2 x B1	56.20	13.51
	A2 x B2	62.21	13.19
	A2 x B3	75.64	13.37
Combinado	A2 x A3	83.62	13.92
	A2 x B1	72.71	12.52
	A2 x B2	73.62	12.17
	A2 x B3	91.03	12.29

Los valores predichos del rendimiento de cruzas no evaluadas, a partir del modelo de selección genómica que aquí se ha empleado, se respalda en la precisión predictiva que éste proporcionó y que como se ha encontrado, está en concordancia con otros estudios (Burgueño *et al.*, 2012), por lo que la predicción del rendimiento con base en la SG es una alternativa para evitar la evaluación en campo de grandes cantidades de material genético, que muchas veces no alcanza el rendimiento requerido. Pues por ejemplo, Hallauer (1990) menciona que los mejoradores de maíz comercial evalúan rutinariamente varios cientos de cruzas simples en sus respectivos programas de mejoramiento cada año y típicamente, menos del 1% de las probadas, con el tiempo se convierten en híbridos comerciales.

Las estimaciones de componentes de varianza por ambiente y del derivado de la combinación del total de ambientes, se muestran en el Cuadro III.4. El efecto residual ( $e$ ) explicó la mayor proporción de la varianza del rendimiento en todos los ambientes, aunque con valores muy distintos a través de estos, debido a las variaciones ambientales a través de años y su interacción con el genotipo para la expresión de sus genes. El hecho de que la varianza residual fue más importante que las varianzas debidas a efectos de aptitud combinatoria general y específica, puede atribuirse a otros factores como efectos epistáticos y también el desequilibrio de ligamiento; Hallauer *et al.* (2010) señalan que este último puede decrecer o aumentar la varianza, pues la fase de acoplamiento provoca un alza de las varianzas aditiva y de dominancia. Sin embargo, Bernardo (1994) menciona que estimaciones precisas de las varianzas genéticas no son necesarias para la predicción efectiva del rendimiento de cruzas simples, sino que una aproximación de su valor es suficiente.

**Cuadro III.4.** Componentes de varianza estimados y su error estándar para tres ambientes (años) y su análisis combinado.

Componente de varianza	Años			Combinado
	2011	2012	2013	
$\sigma^2_e$	124.33	387.83	180.47	148.16
	$\pm 51.42$	$\pm 157.67$	$\pm 73.71$	$\pm 60.96$
$\sigma^2_{m1}$	0.00060	0.0023	0.00079	0.00078
	$\pm 0.00039$	$\pm 0.0015$	$\pm 0.00054$	$\pm 0.00052$
$\sigma^2_{m2}$	0.00064	0.0016	0.00083	0.00074
	$\pm 0.00043$	$\pm 0.0010$	$\pm 0.00055$	$\pm 0.00048$
$\sigma^2_{m3}$	0.00039	0.0013	0.00052	0.00048
	$\pm 0.00023$	$\pm 0.00074$	$\pm 0.00030$	$\pm 0.00028$
$\sigma^2_{SCA/ \sigma^2_G}$	0.24	0.25	0.24	0.24

$\sigma^2_e$  varianza residual;  $\sigma^2_{m1}$  varianza debida a efectos de aptitud combinatoria general materna;  $\sigma^2_{m2}$  varianza debida a efectos de aptitud combinatoria general paterna;  $\sigma^2_{m3}$  varianza debida a efectos de aptitud combinatoria especifica;  $\sigma^2_{SCA/ \sigma^2_G}$  relación varianza de aptitud combinatoria especifica con varianza genética total.

La varianza estimada debida a efectos de aptitud combinatoria general del progenitor femenino y del progenitor masculino presentaron valores similares dentro de cada ambiente para todos los años; el valor que tuvieron ambos componentes en los años 2011 y 2013 no

fueron muy variables, con rango de 0.00060 a 0.00083, pero fueron diferentes a los del año 2012, que tuvo valores de 0.0023 y 0.0016. Con el análisis combinado se corroboró lo obtenido en los análisis individuales, pues los valores fueron de 0.00078 y 0.00074 para efectos de la madre y del padre, respectivamente, mostrando poca variación entre ellos.

Los efectos de aptitud combinatoria específica tuvieron una menor aportación a la varianza del rendimiento en todos los años, en comparación a los de aptitud combinatoria general, excepto para el 2012, donde el valor fue muy parecido al de efectos del padre. Aunque los efectos de la varianza de dominancia parecieran ser de menor importancia que los de la varianza aditiva, Technow *et al.* (2012) encontraron que aun siendo bajos, su incorporación en el modelo mejora la precisión de la predicción.

La proporción promedio de la varianza de aptitud combinatoria específica (ACE) a la varianza genética total de 0.24, difiere con el reportado por Hallauer y Miranda (1981) de 0.38, pero fue similar a la encontrada por Bernardo (1996 a) de 0.26, quien señalo que dicho resultado pudo deberse a diferencias del germoplasma y ambientes usados, pero también a la exclusión de términos explícitos para la interacción  $G \times A$ , como fue el caso.

## **CONCLUSIONES**

La metodología de selección genómica para predecir la ACG de líneas y el rendimiento de sus cruzas simples, aplicada a líneas de maíz Chalqueño con diferente nivel de endogamia y contrastantes en ACG, mostró ser efectiva.

Incluir líneas autofecundadas de ACG ya probada y conocida, indicó con toda claridad que la ACG de líneas de maíz puede medirse y predecirse molecularmente con GBS SNPs, y que los alelos de las plantas de alta ACG son molecularmente diferentes a los de las plantas de baja ACG. Teniendo como población de referencia a las líneas de alta y baja ACG de este estudio en un programa de SG, se podrían identificar con toda claridad y facilidad líneas de alta ACG, o inclusive plantas de alto rendimiento, en maíz. Lo que faltaría por corroborar es si los alelos de alta ACG o los de alto rendimiento son universales en el genoma del maíz. Lo anterior facilitaría grandemente el mejoramiento genético molecular en maíz.

El uso de GBS SNPs, los genotipos relacionados genéticamente, y los componentes del modelo de predicción genómica utilizado, fueron factores que contribuyeron a la precisión efectiva de la predicción del rendimiento de cruzas simples. Las correlaciones entre valores predichos y observados fueron suficientemente altas para indicar que el rendimiento de cruzas simples de líneas autofecundadas evaluadas y no evaluadas, puede ser predicho efectivamente con el modelo propuesto, aun cuando este no incluyó efectos de interacción  $G \times A$ , la heredabilidad del rendimiento fue baja, y la mayoría de las líneas fueron parcialmente endogámicas.

La metodología empleada en este estudio para la predicción genómica de la ACG de líneas y el rendimiento de cruzas simples, podría usarse para alcanzar mayor eficiencia en los programas de mejoramiento genético de maíz híbrido en México.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bernardo R. (1994)** Prediction of maize single-cross performance using RFLPs and information from related hybrids. *Crop Science* 34:20-25. doi:10.2135/cropsci1994.0011183X003400010003x
- Bernardo R. (1996a)** Best linear unbiased prediction of maize single-cross performance. *Crop Science* 36:50-56. doi:10.2135/cropsci1996.0011183X003600010009x
- Bernardo R. (1996b)** Best linear unbiased prediction of the performance of crosses between untested maize inbreds. *Crop Science* 36:872-876. doi:10.2135/cropsci1996.0011183X003600040009x
- Bernardo R. (2001)** Breeding potential of intra- and interheterotic group crosses in maize. *Crop Science* 41:68-71. doi:10.2135/cropsci2001.41168x
- Burgueño J., G. de los Campos, K. Weigel and J. Crossa (2012)** Genomic prediction of breeding values when modeling genotype  $\times$  environment interaction using pedigree and dense molecular markers. *Crop Science* 52:707-719. doi:10.2135/cropsci2011.06.0299
- CIMMYT (2005)** Laboratory Protocols: CIMMYT Applied Molecular Genetics Laboratory. Third edition. Mexico, D. F.: CIMMYT.
- Crossa J., Y. Beyene, S. Kassa, P. Pérez, J. M. Hickey, C. Chen, G. de los Campos, J. Burgueño, V. S. Windhausen, E. Buckler, J.-L. Jannink, M. A. López Cruz and R. Babu (2013)** Genomic prediction in maize breeding populations with genotyping-by-sequencing. *Genes/Genomes/Genetics* 3:1903-1926. doi:10.1534/g3.113.008227
- Crossa J., P. Pérez, J. Hickey, J. Burgueño, L. Ornella, J. Cerón-Rojas, X. Zhang, S. Dreisigacker, R. Babu, Y. Li, D. Bonnett and K. Mathews (2014)** Genomic prediction in CIMMYT maize and wheat breeding programs. *Heredity* 112:48-60. doi:10.1038/hdy.2013.16
- Elshire R. J., J. C. Glaubitz, Q. Sun, J. A. Poland, K. Kawamoto, E. S. Buckler and S. E. Mitchell (2011)** A robust, simple Genotyping-by-Sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS ONE* 6: 1-10 e19379. doi:10.1371/journal.pone.0019379

- Estaghvirou S. B. O., J. O. Ogutu, T. Schulz-Streeck, C. Knaak, M. Ouzunova, A. Gordillo and H.-P. Piepho (2013)** Evaluation of approaches for estimating the accuracy of genomic prediction in plant breeding. *BMC Genomics* 14:860-880. doi:10.1186/1471-2164-14-860
- Falconer D. S. y T. F. C. Mackay (2006)** Introducción a la Genética Cuantitativa. Acribia S. A. Zaragoza, España. 469 p.
- Gao S., C. Martínez, D. J. Skinner, A. F. Krivanek, J. H. Crouch, and Y. Xu (2008)** Development of a seed DNA-based genotyping system for marker-assisted selection in maize. *Molecular Breeding* 22:477-494. doi:10.1007/s11032-008-9192-4
- Guo Z., D. M. Tucker, D. Wang, C. J. Basten, E. Ersoz, W. H. Briggs, J. Lu, M. Li and G. Gay (2013)** Accuracy of across-environment genome-wide prediction in maize nested association mapping populations. *Genes/Genomes/Genetics* 3:263-272. doi:10.1534/g3.112.005066
- Hallauer A. R., and J. B. Miranda (1981)** Quantitative genetics in maize breeding. 2nd edition. Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. 468 p.
- Hallauer A. R. (1990)** Methods used in developing maize inbreds. *Maydica* 35:1-16.
- Hallauer A. R., M. J. Carena and J. B. Miranda F. (2010)** Quantitative Genetics in Maize Breeding. Springer New York. N. Y., USA. 663 p. doi: 0.1007/978-1-4419-0766-0
- Hickey J. M., J. Crossa, R. Babu and G. de los Campos (2012)** Factors affecting the accuracy of genotype imputation in populations from several maize breeding programs. *Crop Science* 52:654-663. doi:10.2135/cropsci2011.07.0358
- Jarquín D., J. Crossa, X. Lacaze, P. Du Cheyron, J. Daucourt, J. Lorgeou, F. Piraux, L. Guerreiro, P. Pérez, M. Calus, J. Burgueño and G. de los Campos (2014)** A reaction norm model for genomic selection using high-dimensional genomic and environmental data. *Theoretical and Applied Genetics* 127:595-607. doi:10.1007/s00122-013-2243-1
- Lobato-Ortiz R., J. D. Molina-Galán, J. J. López-Reynoso, J. A. Mejía-Contreras, y D. Reyes-López (2010)** Criterios para elegir el mejor probador de la aptitud combinatoria

general para rendimiento de grano de líneas autofecundadas de maíz. *Agrociencia* 44:17-30.

**Massman J. M., A. Gordillo, R. E. Lorenzana and R. Bernardo (2013)** Genomewide predictions from maize single-cross data. *Theoretical and Applied Genetics* 126:13-22. doi:10.1007/s00122-012-1955-y

**Melo W. M. C., R. G. V. Pinho and M. Balestre (2014)** Prediction of maize single cross hybrids using the total effects of associated markers approach assessed by cross-validation and regional trials. *The Scientific World Journal* 2014:1-9. doi:10.1155/2014/924348

**Meuwissen T. H. E., B. J. Hayes and M. E. Goddard (2001)** Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157:1819-1829.

**Pérez P. and G. de los Campos (2014)** Genome-wide regression and prediction with the BGLR statistical package. *Genetics* 198:483-495. doi:10.1534/genetics.114.164442

**Schulz-Streeck T., J. O. Ogutu, Z. Karaman, C. Knaak and H.-P. Piepho (2012)** Genomic selection using multiple populations. *Crop Science* 52:2453-2461. doi:10.2135/cropsci2012.03.0160

**Schulz-Streeck T., J. O. Ogutu, A. Gordillo, Z. Karaman, C. Knaak and H.-P. Piepho (2013)** Genomic selection allowing for marker-by-environment interaction. *Plant Breeding* 132:532-538. doi:10.1111/pbr.12105

**Technow F., C. Riedelsheimer, T. A. Schrag and A. E. Melchinger (2012)** Genomic prediction of hybrid performance in maize with models incorporating dominance and population specific marker effects. *Theoretical and Applied Genetics* 125:1181-1194. doi:10.1007/s00122-012-1905-8

**VanRaden P. M. (2008)** Efficient methods to compute genomic predictions. *Journal of Dairy Science* 91:4414-4423. doi:10.3168/jds.2007-0980

**Windhausen V. S., G. N. Atlin, J. M. Hickey, J. Crossa, J.-L. Jannink, M. E. Sorrells, B. Raman, J. E. Cairns, A. Tarekegne, K. Semagn, Y. Beyene, P. Grudloyma, F. Technow, C. Riedelsheimer and A. E. Melchinger (2013)** Effectiveness of genomic

prediction of maize hybrid performance in different breeding populations and environments. *Genes/Genomes/Genetics* 2:1427-1436. doi:10.1534/g3.112.003699

**Zhang X., P. Pérez-Rodríguez, K. Semagn, Y. Beyene, R. Babu, M. A. López-Cruz, F. San Vicente, M. Olsen, E. Buckler, J.-L. Jannink, B. M. Prasanna and J. Crossa (2014)** Genomic prediction in biparental tropical maize populations in water-stressed and well-watered environments using low-density and GBS SNPs. *Heredity* 1-9. doi:10.1038/hdy.2014.99

**Zhang Z., E. S. Buckler, T. M. Casstevens and P. J. Bradbury (2009)** Software engineering the mixed model for genome-wide association studies on large samples. *Briefings in Bioinformatics* 10:664-675. doi:10.1093/bib/bbp050

**Zhao Y., M. Gowda, W. Liu, T. Würschum, H. P. Maurer, F. H. Longin, N. Ranc and J. C. Reif (2012)** Accuracy of genomic selection in European maize elite breeding populations. *Theoretical and Applied Genetics* 124:769-776. doi:10.1007/s00122-011-1745-y

## CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN GENERAL

Los métodos clásicos de mejoramiento genético y la evaluación fenotípica de cultivos han sido y siguen siendo fundamentales en la obtención de cultivares con las características fenotípicas y agronómicas deseadas (Koebner y Summer, 2003). En los programas de mejoramiento para híbridos rendidores de maíz, debido a los fuertes efectos de dominancia para rendimiento de grano (Hallauer *et al.*, 2010), el rendimiento del híbrido no se puede predecir a partir de los datos de las líneas (Smith, 1986), sino que es necesario cruzarlas y evaluar sus cruzas en extensos ensayos de campo para identificar las mejores, lo cual es costoso y consume mucho tiempo, recursos y esfuerzo. Estas desventajas podrían solventarse en gran medida utilizando herramientas genómicas de predicción, tanto de la ACG de las líneas como del rendimiento de sus cruzas.

En esta investigación, al usar la metodología convencional para conocer el rendimiento, encontramos que la mayoría de las cruzas simples de Alta  $\times$  Baja ACG fueron más rendidoras que las de Alta  $\times$  Alta y Baja  $\times$  Baja. Nuestros resultados concuerdan con los de Escorcia-Gutiérrez *et al.* (2010) en que, en las cruzas con rendimiento alto, la aptitud combinatoria general (ACG) fue alta en al menos una de sus líneas progenitoras. Sin embargo, no se encontró el mismo resultado para todas las cruzas de ese tipo sino que algunas presentaron igual rendimiento que cruzas de Alta  $\times$  Alta y Baja  $\times$  Baja, e inclusive algunas cruzas de Baja  $\times$  Baja fueron mejores que ellas.

Dichos resultados, nos ayudaron a comprender que en el desempeño de las cruzas simples para un buen rendimiento manifestado por medio de alta heterosis, están involucrados diferentes

aspectos como los de tipo genético que involucra a los efectos aditivos, de dominancia y epistáticos. Pero además, que la divergencia genética de las líneas juega un papel importante, por lo que típicamente los híbridos comerciales se hacen entre líneas complementarias provenientes de grupos heteróticos opuestos. Asimismo, que la variación de la respuesta encontrada de los genotipos para el rendimiento también estuvo dada por el efecto ambiental, lo cual se demostró con el método AMMI, manifestando que la adaptación y adaptabilidad de la cruce son de esencial importancia para un alto rendimiento, lo que quedó expuesto al encontrar cruces rendidoras de Baja  $\times$  Baja ACG.

Sin embargo, por un lado, los efectos de dominancia y epistáticos que dan la alta heterosis no son heredables. Por otra parte, no se pueden evaluar todas las combinaciones de cruces simples posibles entre líneas de diferentes grupos heteróticos porque el número de híbridos se vuelve infinito (Bernardo, 1994), por ejemplo en esta investigación se utilizaron 4 líneas de alta y 4 de baja ACG, sus cruces simples posibles fueron 28, algo perfectamente manejable; pero si se tuvieran 50 líneas de un grupo heterótico A y 50 líneas de un grupo heterótico B, el número de cruces simples posibles sería de 2450; y conforme aumente el número de líneas y grupos heteróticos, esto se vuelve inmanejable y costoso. Y si a lo anterior aunamos la interacción genotipo  $\times$  ambiente, se torna más difícil encontrar un genotipo que se acerque a lo ideal para alto rendimiento.

Los mejoradores de maíz comercial tratan de evaluar varios cientos de cruces simples cada año, pero alcanzan un bajo porcentaje de materiales probados (1 %) que llegan a convertirse en híbridos comerciales (Hallauer, 1990). Y como lo hemos encontrado en esta investigación, es

porque diversos factores están involucrados en tales resultados. Por lo tanto, es necesario recurrir a nuevas herramientas como las genómicas, por ejemplo, en esta investigación se ha encontrado a la predicción genómica de la ACG de líneas y del rendimiento de cruza simple como una alternativa para seleccionar a nivel genómico los mejores genotipos, lo cual puede contribuir en gran medida a la eficiencia y aceleración de los programas de mejoramiento para la obtención de híbridos de cruza simple de alto rendimiento.

La selección genómica ofrece nuevas oportunidades complementarias para incrementar la eficiencia de los programas de mejoramiento de plantas (Crossa *et al.*, 2010). El mayor potencial es su efectividad para seleccionar individuos de alto valor aditivo sin que se tengan sus datos fenotípicos, lo cual puede facilitar el acortamiento del ciclo de mejoramiento y permitir la selección rápida y cruzamiento del material de generación temprana (Hickey *et al.*, 2014); pero si a esto se suma, que en esta investigación se encontró que la ACG de líneas de maíz puede medirse y predecirse molecularmente con GBS SNPs, éste es otro aspecto de gran importancia que contribuiría a una selección aún más dirigida del material genético a emplear en un programa de mejoramiento de híbridos.

La selección genómica (SG) es una herramienta recientemente propuesta (Meuwissen *et al.*, 2001); pero el enfoque que presenta es capaz de integrar su metodología con la agronomía tradicional (Gallego *et al.*, 2011) para comprender mejor el manejo de los caracteres cuantitativos, y así encontrar información de la variabilidad de los genotipos para tomar decisiones pertinentes en los programas de mejoramiento genético. Con esto se debe entender que no podemos prescindir de las teorías desarrolladas por las metodologías de mejoramiento

convencional, por el contrario deben ser retomadas para enriquecer y fortalecer las nuevas metodologías; por ejemplo, en la presente investigación se encontró que la ACG de las líneas caracterizada por medio de SNPs, puede ser un factor importante para una mejor selección; y que la heredabilidad y la interacción Genotipo  $\times$  Ambiente, son ineludibles para la SG del rendimiento de cruzas simples.

La interacción genotipo  $\times$  ambiente juega un papel muy importante en la precisión de la selección genómica, ya que los efectos de los genes sobre los caracteres son modulados por los efectos de las condiciones ambientales (Jarquín *et al.*, 2014). El modelado de la interacción marcador  $\times$  ambiente también podría mejorar la selección genómica (Crossa *et al.*, 2010). Así también, Burgueño *et al.*, (2012) han señalado que se requiere más investigación para examinar la evaluación en la predicción del modelaje de las varianzas genéticas no aditivas, tales como la de dominancia y epistasis y sus interacciones con los ambientes.

En esta investigación, mediante el uso del GBS SNPs para la predicción genómica del rendimiento de cruzas simples en diferentes ambientes, al utilizar los datos fenotípicos de la población de entrenamiento, que fueron 24 de las 28 cruzas simples posibles entre las líneas, de alguna forma sí se consideró el efecto ambiental porque los datos provinieron de plantas que crecieron en el ambiente en que se obtuvieron las líneas, por lo tanto las predicciones se ajustan a los datos verdaderos de cada ambiente de evaluación.

La SG pretende una selección más temprana, más barata y con mayor intensidad que la fenotípica (Gallego *et al.*, 2011), pues tiene el potencial para alterar radicalmente la estructura

de los programas de mejoramiento reduciendo los intervalos entre generaciones. Con los sistemas más modernos de genotipificación de alta resolución, se aumenta considerablemente la capacidad para analizar más individuos que con las pruebas de campo, y por tanto aumenta la intensidad de selección, pues la selección con marcadores moleculares permite una mayor flexibilidad para la evaluación y selección de los individuos, ya que el ADN puede analizarse sin las premuras de tiempo que en muchos casos requieren los análisis agronómicos y morfológicos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bernardo R. (1994)** Prediction of maize single-cross performance using RFLPs and information from related hybrids. *Crop Science* 34:20-25. doi:10.2135/cropsci1994.0011183X003400010003x
- Burgueño J., G. de los Campos, K. Weigel and J. Crossa (2012)** Genomic prediction of breeding values when modeling genotype  $\times$  environment interaction using pedigree and dense molecular markers. *Crop Science* 52:707-719. doi:10.2135/cropsci2011.06.0299
- Crossa J., G. de los Campos, P. Pérez, D. Gianola, G. Atlin, J. Burgueño, J. L. Araus, D. Makumbi, J. Yan, V. Arief, M. Banziger, and H. J. Braun (2010)** Prediction of genetic values of quantitative traits in plant breeding using pedigree and molecular markers. *Genetics* 186:713-724.
- Escorcia-Gutiérrez N., J. D. Molina-Galán., F. Castillo-González y J. A. Mejía-Contreras (2010)** Rendimiento, heterosis y depresión endogámica en cruza simples de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana* 33:271-279.
- Gallego F. J., A. Sánchez B., P. Arús, M. A. Toro y P. Martínez P. (2011)** Selección Genética y Genómica en Agricultura, Ganadería, Silvicultura y Acuicultura. Informe de Vigilancia Tecnológica. Genoma España. Madrid, España. 89 p.

**Hallauer A. R. (1990)** Methods used in developing maize inbreds. *Maydica* 35:1-16.

**Hallauer A. R., M. J. Carena and J. B. Miranda F. (2010)** Quantitative Genetics in Maize Breeding. Springer New York. N. Y., USA. 663 p. doi: 0.1007/978-1-4419-0766-0

**Hickey J. M., S. Dreisigacker, J. Crossa, S. Hearne, R. Babu, B. M. Prasanna, M. Grondona, A. Zambelli, V. S. Windhausen, K. Mathews and G. Gorjanc (2014)** Evaluation of genomic selection training population designs and genotyping strategies in plant breeding programs using simulation. *Crop Science* 54:1476-1488. doi:10.2135/cropsci2013.03.0195

**Jarquín D., J. Crossa, X. Lacaze, P. Du Cheyron, J. Daucourt, J. Lorgeou, F. Piraux, L. Guerreiro, P. Pérez, M. Calus, J. Burgueño and G. de los Campos (2014)** A reaction norm model for genomic selection using high-dimensional genomic and environmental data. *Theoretical and Applied Genetics* 127:595-607. doi:10.1007/s00122-013-2243-1

**Koebner R. M. D. and R. W. Summer (2003)** 21st Century Wheat Breeding: Plot selection or Plante detection?. *Trends in biotechnology* 21:59-63.

**Meuwissen T. H. E., B. J. Hayes and M. E. Goddard (2001)** Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157:1819-1829.

**Smith O. S. (1986)** Covariance between line *per se* and testcross performance. *Crop Science* 26:540-543.

## CAPÍTULO V. CONCLUSIONES GENERALES

La evaluación del comportamiento del rendimiento de cruzas simples de líneas de maíz de ACG contrastante mediante las metodologías tradicionales de mejoramiento, permitió comprender el comportamiento diferencial para rendimiento entre y dentro de los tipos de cruzas simples entre líneas de Alta y Baja ACG.

Se encontró que la mayoría de las cruzas simples de Alta  $\times$  Baja ACG fueron más rendidoras que las de Alta  $\times$  Alta y Baja  $\times$  Baja, demostrando la importancia de la cruce entre líneas de ACG contrastante en los efectos heteróticos para rendimiento. Asimismo, con el análisis AMMI, se demostró que dichas cruzas interactúan con el ambiente y que la adaptación y adaptabilidad de la cruce son de esencial importancia para un alto rendimiento.

En el desempeño para el rendimiento de cruzas simples de maíz interactúan varios factores genéticos, como la acumulación de efectos aditivos, la presencia de efectos de dominancia, y epistasis, la divergencia genética entre líneas y su ACG contrastante; y además, el factor ambiental en su interacción con el genotipo.

La evaluación de la metodología de SG para conocer la ACG alta o baja de líneas y predecir el rendimiento de sus cruzas simples usando GBS SNPs, mostró ser efectiva, por lo cual puede ser una herramienta alternativa complementaria que proporcionaría el ahorro de tiempo, espacio y recursos en los programas de mejoramiento genético de maíz híbrido.

La ACG de líneas de maíz puede medirse y predecirse molecularmente con GBS SNPs, por lo tanto, teniendo como población de referencia a las líneas de alta y baja ACG de este estudio en un programa de SG, se podrían identificar a líneas de alta ACG, o inclusive plantas de alto rendimiento, lo cual facilitaría grandemente el mejoramiento genético en maíz.

El modelo usado en esta investigación, puede ser aplicado a la predicción del rendimiento de cruza simples de maíz evaluadas y no evaluadas, ya que mostró su efectividad aun cuando: éste no incluyó efectos de interacción  $G \times A$ ; se tuvo heredabilidad baja del rendimiento; y la mayoría de las líneas fueron parcialmente endogámicas. Pero también se debe tomar en cuenta que el uso de GBS SNPs y la relación genética cercana entre individuos contribuyeron a la precisión de la predicción.

La metodología convencional reveló que la diversidad de elementos genéticos y ambientales involucrados en la respuesta de las cruza simples para rendimiento, dificulta la identificación de los mejores genotipos; pero la metodología de SG mostró a la predicción genómica de la ACG de líneas y del rendimiento de sus combinaciones simples, como una alternativa para solventar en gran medida, al menos estos dos factores de suma importancia en un programa de hibridación.

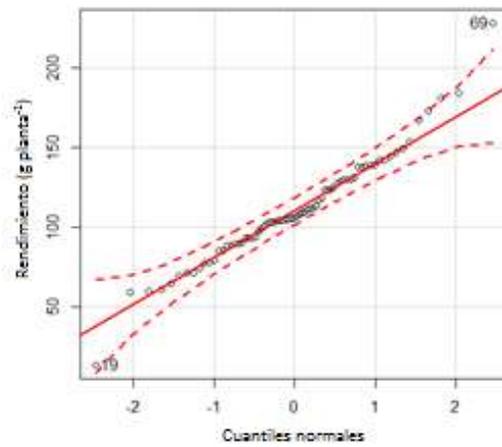
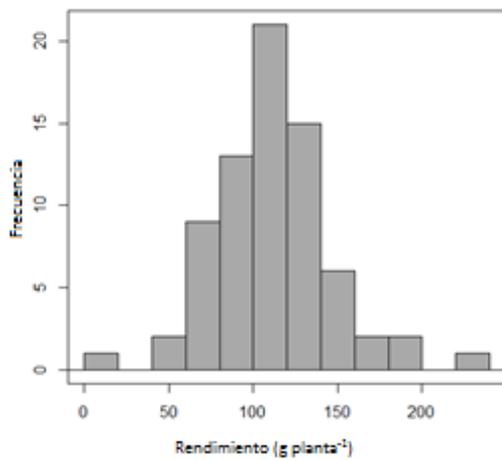
Por lo tanto, el mejoramiento genético clásico y la SG deberían asociarse para el mejoramiento más rápido y eficiente del rendimiento que acelere los programas de hibridación de maíz en México.

## ANEXOS

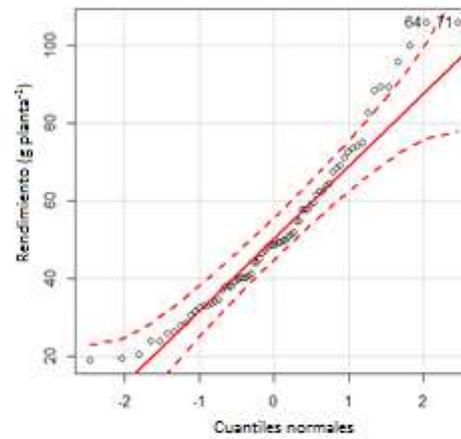
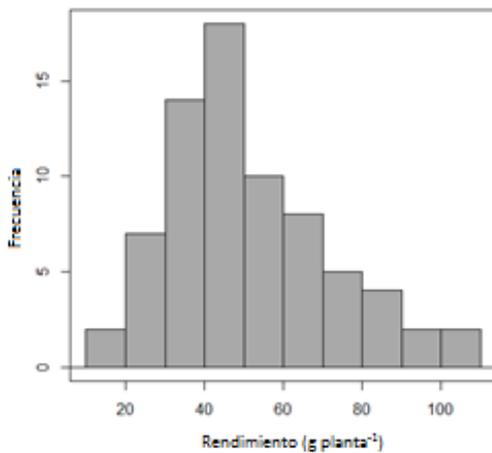
### A. Datos fenotípicos de cruzas y líneas.

Histogramas del rendimiento de grano y la comparación de la distribución empírica del conjunto de datos con la normal teórica, indican una distribución de la variable cercana a la normal en tres años 2011 (a), 2012 (b) y 2013 (c) para cruzas; y en dos años 2012 (d) y 2013 (e) para líneas.

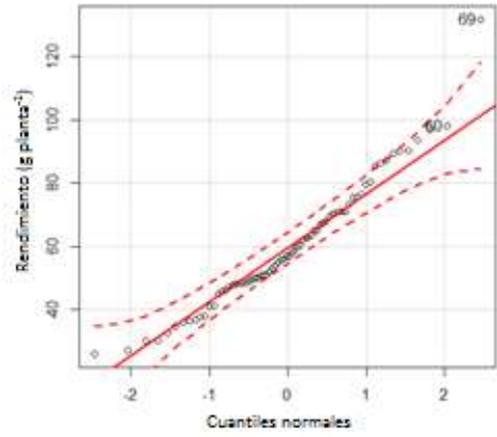
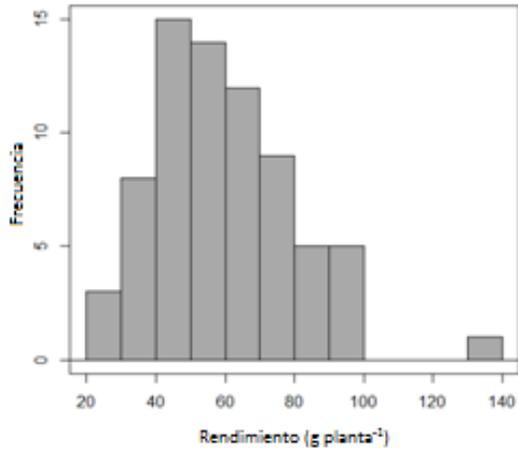
a)



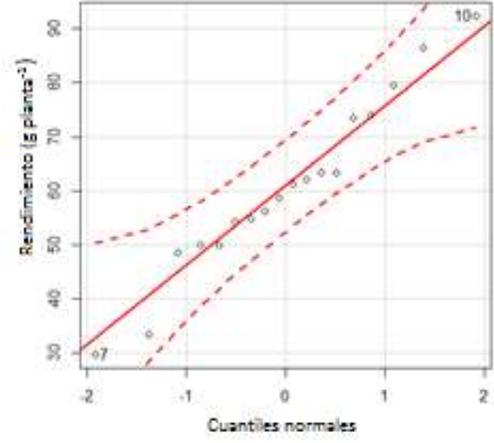
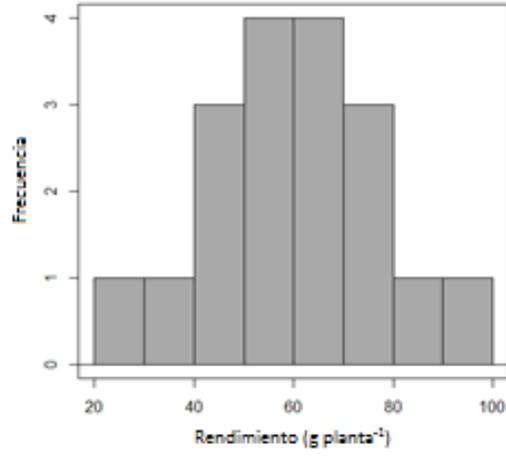
b)



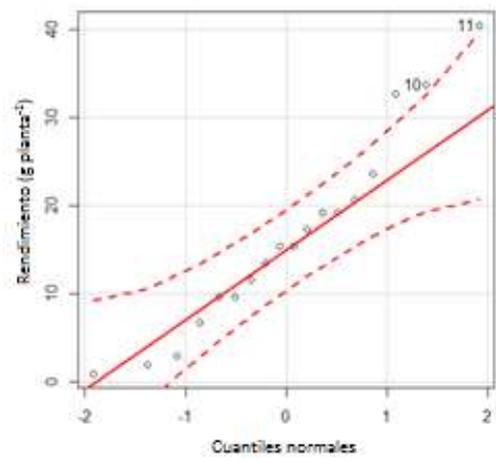
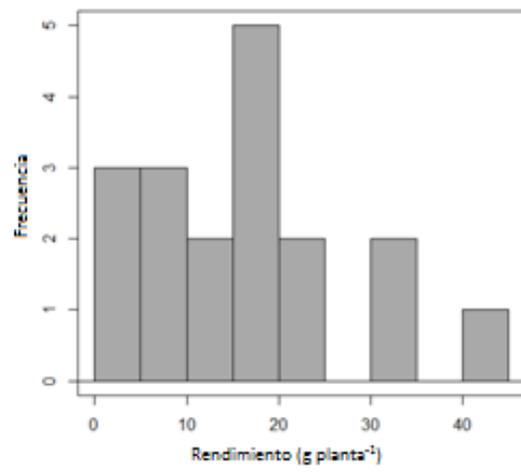
c)



d)

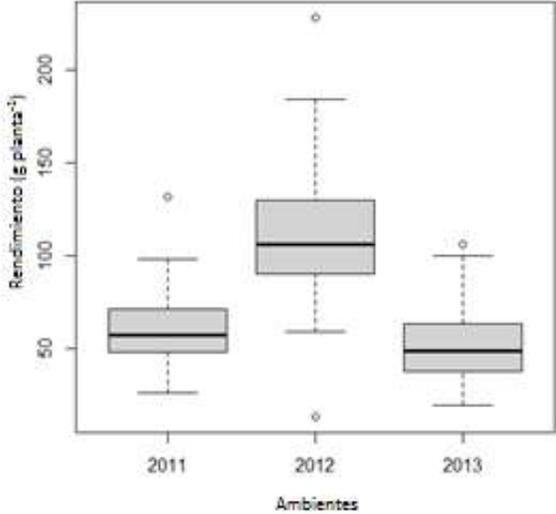


e)

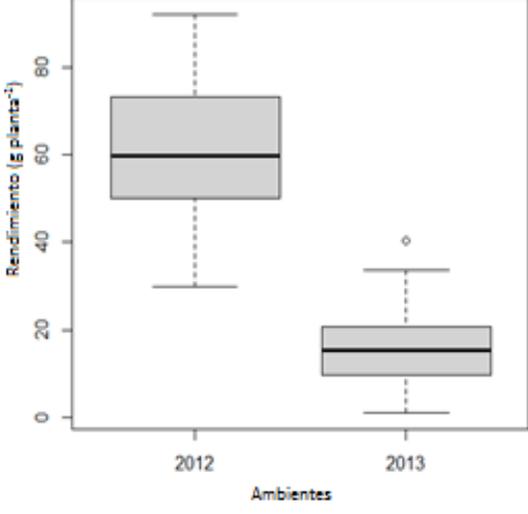


Efecto del ambiente en el rendimiento de grano: para cruzas (a) en 2011, 2012 y 2013; y para líneas (b) 2012 y 2013. En ambos el rendimiento en el año 2012 fue superior.

a)



b)



**B. Ejemplo de una página de la matriz de datos genotípicos obtenida a partir del GBS SNPs.**

rs#	alleles	chrom	pos	strand	assembly#	center	protLSTID	assayLSTID	panelLSTID	QCcode	INIFAP_10:C3KBGACXX:8:250280224	INIFAP_1:C3KBGA							
N	N	G	N	G	N	GS0_42206	C	0	42206	+	NA	NA							
G	NS0_140338	G	0	140338	+	NA	NA	NA	NA	NA	G	N							
N	N	N	C	C	N	C	C	NS0_315506	T	0	315506	+							
NA	NA	NA	NA	N	N	N	N	N	N	T	NS0_466580	G	0	466580	+	NA	NA		
G	0	729173	+	NA	NA	NA	NA	NA	N	N	G	N	N	N	N	GS0_729188			
C	N	C	C	C	N	CS0_1000924	A/G	0	1000924	+	NA	NA	NA	NA	NA	N	N		
G	GS0_1319066	C	0	1319066	+	NA	NA	NA	NA	NA	C	C	N	N	C	N	C		
6	NA	0	2557916	+	NA	NA	NA	NA	NA	N	N	N	N	N	N	N	NS0_255		
+	NA	NA	NA	NA	NA	C	C	C	N	C	C	C	C	C	CS0_2570034	C	0	2570034	
NA	NA	NA	NA	T	N	N	T	T	T	T	T	T	T	TS0_2572921	C	0	2572921	+	NA
NA	NA	C	C	C	C	C	C	Y	C	CS0_2885461	C	0	2885461	+	NA	NA	NA	NA	
C	C	C	C	CS0_2887581	NA	0	2887581	+	NA	NA	NA	NA	N	N	N	N	N		
0_2891513	G	0	2891513	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	N	N	N	N	G	N	G	N	G
1703	C	0	2891703	+	NA	NA	NA	NA	NA	C	C	N	C	C	N	C	C	C	CS0_289
2893618	+	NA	NA	NA	NA	NA	C	N	N	N	N	T	N	NS0_2893700	NA	0			
006	+	NA	NA	NA	NA	NA	R	R	N	N	N	N	N	G	AS0_3377129	C	0		
NA	NA	NA	NA	G	N	N	G	G	G	N	N	N	NS0_3499853	G	0	3499853	+	NA	NA
G	G	G	N	N	G	N	GS0_3947053	NA	0	3947053	+	NA	NA	NA	NA	NA	N	N	
A	N	N	AS0_4069794	C	0	4069794	+	NA	NA	NA	NA	NA	C	N	N	C	N	C	
94	C	0	4723794	+	NA	NA	NA	NA	NA	N	N	N	N	C	N	N	C	CS0_472	
NA	NA	NA	NA	NA	C	N	N	C	N	N	NS0_4864150	A	0	4864150	+				
NA	R	G	G	G	R	G	R	R	GS0_4864440	T/C	0	4864440	+	NA	NA	NA	NA	NA	
N	N	N	N	N	N	NS0_4883051	G	0	4883051	+	NA	NA	NA	NA	NA	G	N		
T	TS0_4883257	G	0	4883257	+	NA	NA	NA	NA	NA	G	N	N	G	N	N	N	N	
550	G	0	5074550	+	NA	NA	NA	NA	NA	G	G	N	G	N	N	G	N	G	GS0_507
0	5191061	+	NA	NA	NA	NA	NA	T	N	N	N	N	T	N	T	NS0_5191084	T		
NA	NA	NA	NA	NA	C	C	C	N	N	N	N	C	NS0_5320918	C	0	5320918	+		
NA	NA	NA	C	N	N	N	N	N	N	NS0_5392776	A	0	5392776	+	NA	NA	NA		
N	N	C	N	C	C	CS0_5434045	G	0	5434045	+	NA	NA	NA	NA	NA	N	N	N	
50_540070	A/G	0	5440070	+	NA	NA	NA	NA	NA	N	R	N	N	N	N	N	G	A	
0	5565756	+	NA	NA	NA	NA	NA	C	C	N	C	N	C	C	C	CS0_5565766	C		
7	+	NA	NA	NA	NA	NA	C	C	N	N	C	C	C	C	CS0_5633969	G	0		
NA	NA	NA	NA	N	G	N	N	G	G	G	GS0_5694118	NA	0	5694118	+	NA	NA		
N	N	N	N	N	N	N	N	NS0_6310319	A	0	6310319	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
C	N	N	N	NS0_6592686	G	0	6592686	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	N	N	N	N	