



COLEGIO DE POSTGRUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

PRODUCCIÓN DE SEMILLAS

**EFFECTOS DE APTITUD COMBINATORIA Y DE INTERACCIÓN GENOTIPO X
AMBIENTE EN MAÍZ PARA PROVITAMINA A Y RENDIMIENTO**

GERMÁN MINGRAMM YARZA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO
2012**

La presente tesis titulada **Aptitud combinatoria y efectos entre genotipo y medio ambiente en maíz en relación a provitamina A y rendimiento**, realizada por el alumno **Germán Mingramm Yarza**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
PRODUCCIÓN DE SEMILLAS

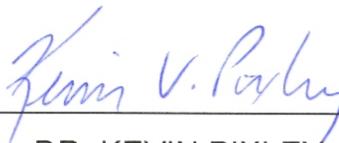
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



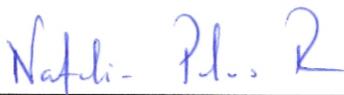
DR. AQUILES CARBALLO CARBALLO

ASESOR



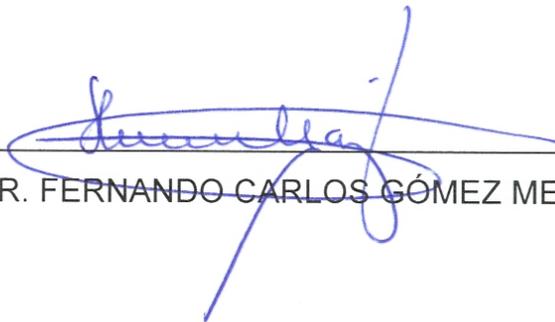
DR. KEVIN PIXLEY

ASESORA



DRA. NATALIA PALACIOS ROJAS

ASESOR



DR. FERNANDO CARLOS GÓMEZ MERINO

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Julio del 2012

EFFECTOS DE APTITUD COMBINATORIA Y DE INTERACCIÓN GENOTIPO X AMBIENTE EN MAÍZ, PARA PROVITAMINA A Y RENDIMIENTO

Germán Mingramm Yarza, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2012

Con la finalidad de evaluar la aptitud combinatoria y los efectos entre genotipo y medio ambiente en maíz, en relación con la provitamina A y rendimiento, la presente investigación se realizó utilizando las cruzas de 38 líneas (22 pertenecientes al grupo heterótico A y 16 al grupo heterótico B) con tres probadores cada una. Los híbridos formados se evaluaron en cuatro ensayos (tres del grupo heterótico A y uno del grupo heterótico B) bajo un diseño de bloques incompletos al azar. Cada ensayo se sembró en cuatro ambientes dentro de dos localidades (Tlaltizapán, Morelos– condiciones normales y labranza de conservación; y Agua Fría, Puebla– condiciones normales y de estrés hídrico). Los híbridos se evaluaron para rendimiento, días a floración y altura de planta; asimismo se determinó el contenido de carotenos en el grano. Las conclusiones relevantes son: 1) La provitamina A es un carácter altamente heredable, mostrando una heredabilidad promedio del 56%. 2) La interacción genotipo x ambiente no fue estadísticamente significativa. 3) Hubo diferencias significativas en los efectos del ambiente. 4) No se observaron correlaciones significativas entre los caracteres de rendimiento y provitamina A.

Palabras clave: *Zea mays*, carotenos, heredabilidad y aditividad.

COMBINING ABILITY AND GENOTYPE X ENVIRONMENT INTERACTION EFFECTS IN MAIZE FOR PROVITAMIN A AND YIELD

Germán Mingramm Yarza M.Sc.

Colegio de Postgraduados, 2012

In order to assess the evaluation of the combining ability and the genotype vs. environment effects in maize, in terms of provitamin A and yield, this research was developed, from crossing 38 lines (22 from the heterotic group A and 16 from the heterotic group B) with three testers each. Four trials were evaluated using the formed hybrids (three corresponding to the heterotic group A and one of them corresponding to the heterotic group B) under a randomized incomplete block design. Each trial was planted in four environments in two locations (Tlaltizapán, Morelos– normal conditions and conservation agriculture; and Agua Fría, Puebla- normal conditions and water stress). The hybrids were scored for yield, days of flowering and plant height; likewise the carotenoid content of the grain was determined. The most relevant conclusions are: 1) Provitamin A is a high heritable trait, showing an average of heritability of 56. 2) The genotype x environment interaction was not statistically significant. 3) There were significant effects of the environment. 4) No significant correlations were observed between the yield and provitamin A.

Key words: *Zea mays*, carotenes, heritability and additivity.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico brindado para realizar mis estudios de Maestría.

Al Colegio de Postgraduados, en especial al REGEP, Programa de Producción de Semillas, por haberme dado la formación, herramientas y motivación para realizar mis estudios.

Al Doctor Aquiles Carballo Carballo, Consejero en mi programa de maestría, por todo su apoyo, orientación e impulso para llevar a cabo mis estudios de Maestría y por llevar en buenos términos la presente investigación.

Al Doctor Kevin Pixley por haber sido pieza fundamental para la realización de este estudio, por su guía, disposición para formarme y motivarme para hacer un buen trabajo de investigación.

A la Doctora Natalia Palacios Rojas, por haberme dado acertadas sugerencias, consejos y opiniones para escribir ciencia de la mejor manera, al igual que para alcanzar niveles aceptables de calidad en la escritura de mi tesis.

Al Doctor Fernando Gómez Merino, por sus valiosas observaciones que me ayudaron a darle más estilo y afinación a la tesis.

Al Centro Internacional de Maíz y Trigo por haberme dado la oportunidad de realizar mi proyecto de investigación en sus instalaciones y haciendo uso de sus recursos; lo cual me favoreció enormemente para la obtención de datos y posteriormente para la generación de resultados.

Al Doctor Gregorio Alvarado Beltrán por las incontables sesiones que me brindo para comprender mejor los análisis estadísticos que utilicé en mi estudio; así como también por su paciencia y soporte.

Al Ing. Luis Galicia y a todo su equipo del Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz, por ayudarme a analizar el contenido de carotenoides de todas las muestras de mi tesis.

A los Ingenieros Raymundo López y Oscar Bañuelos por su gran soporte y apoyo para poder realizar mis experimentos en campo, brindándome personal, ayuda con el manejo del cultivo y con muchos detalles que en su tiempo fueron cruciales para el éxito de los experimentos.

DEDICATORIA

A mis padres, quiénes desde siempre me han apoyado firmemente en todo lo que he emprendido; así como también, por motivarme a seguir luchando en lograr lo que quiero sin olvidarme de mis valores y del sentido humano.

A mi hermana Marta por todo su respaldo y por escucharme siempre.

A mi abuelo Jorge por su inspiración a orillarme hacia el mundo de la ciencia y del hacer algo positivo por la gente.

ÍNDICE

	Página
RESUMEN GENERAL	ii
GENERAL ABSTRACT	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
DEDICATORIA	vi
ÍNDICE	vii
ÍNDICE DE CUADROS	x
ÍNDICE DE CUADROS DEL APÉNDICE	xii
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivos.....	3
1.2 Hipótesis.....	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Descripción del cultivo del maíz.....	4
2.2 Importancia del maíz.....	5
2.3 Calidad nutricional del maíz.....	7
2.4 Deficiencias de Vitamina A y consecuencias en la salud humana.....	11
2.5 La Provitamina A en maíz.....	13
2.6 La biofortificación.....	16

	Página
2.7 Aptitud combinatoria general y específica.....	18
2.8 Efectos de interacción Genotipo x Ambiente.....	22
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
3.1 Evaluación morfológica.....	25
3.1.1 Material genético.....	25
3.1.2 Origen del material genético.....	25
3.1.3 Descripción de la zona de estudio.....	28
3.1.4 Diseño y unidad experimental.....	28
3.1.5 Manejo del cultivo.....	31
3.1.6 Autofecundación de plantas para análisis de carotenos.....	32
3.1.7 Variables evaluadas en campo.....	33
3.2 Determinación de carotenoides en el grano de maíz.....	33
3.3 Análisis estadístico.....	37
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
4.1 Evaluación de la diversidad genética.....	40
4.1.1 Análisis de varianza (ANOVA).....	40
4.1.2 Análisis de correlaciones fenotípicas entre las variables	43
4.1.3 Análisis de aptitud combinatoria.....	46
4.1.4 Heredabilidad de los caracteres que se evaluaron en el estudio	59

	Página
5. CONCLUSIONES.....	60
6. BIBLIOGRAFÍA.....	61
7. APÉNDICE.....	76

ÍNDICE DE CUADROS

		Página
Cuadro 1.	Conformación de ensayos de acuerdo a líneas seleccionadas para análisis de provitamina A. Autofecundaciones esperadas para el estudio vs autofecundaciones logradas	27
Cuadro 2.	Descripción de ensayos establecidos para las evaluaciones del estudio	30
Cuadro 3.	ANOVA combinado entre localidades para provitamina A	42
Cuadro 4.	ANOVA combinado completo de 14 líneas en tres localidades para provitamina A	43
Cuadro 5.	ANOVA combinado completo entre localidades para rendimiento	44
Cuadro 6.	Análisis de correlaciones entre las variables fenotípicas	45
Cuadro 7.	ACG y ACE combinado entre localidades para rendimiento en el Ensayo 1A del grupo heterótico	46
Cuadro 8.	ACG y ACE combinado entre localidades para provitamina A en el Ensayo 2A del grupo heterótico A	49
Cuadro 9.	ACG y ACE combinado entre localidades para rendimiento en el Ensayo 2A del grupo heterótico A	49
Cuadro 10.	Relación entre los mejores materiales para rendimiento y para provitamina A del Ensayo 2A	50
Cuadro 11.	ACG y ACE combinado entre localidades para provitamina A en el Ensayo 3A del grupo heterótico A	53
Cuadro 12.	ACG y ACE combinado entre localidades para rendimiento en el Ensayo 3A del grupo heterótico A	53
Cuadro 13.	Relación entre los mejores materiales para rendimiento y para provitamina A ensayo 3A	54
Cuadro 14.	ACG y ACE combinado entre localidades para provitamina A en el Ensayo 1B del grupo heterótico B	56
Cuadro 15.	ACG y ACE combinado entre localidades para provitamina A en el Ensayo 1B del grupo heterótico B	56
Cuadro 16.	ACG y ACE combinado entre localidades para rendimiento el Ensayo 1B del grupo heterótico B	57
Cuadro 17.	ACG y ACE combinado entre localidades para rendimiento el Ensayo 1B del grupo heterótico B	58

	Página
Cuadro 18. Relación entre los mejores materiales para rendimiento y para provitamina A del Ensayo 1B	58
Cuadro 19. Heredabilidades para los caracteres provitamina A y rendimiento	60

ÍNDICE DE CUADROS DEL APÉNDICE

	Página
Cuadro A-1. Líneas utilizadas para la formación de híbridos, los cuales fueron evaluados para medir aptitud combinatoria.....	76
Cuadro A-2. Probadores utilizados para la formación de híbridos, los cuales fueron evaluados para medir aptitud combinatoria.....	79
Cuadro A-3. Híbridos que fueron analizados bioquímicamente para determinar el contenido de carotenos: provitamina A, zeaxantina, luteína, beta-caroteno, beta-cryptozantina.	80

1. INTRODUCCIÓN

El maíz, es considerado un alimento básico para alrededor de 200 millones de personas en el mundo, especialmente en Latinoamérica, Asia y África (USDA, 2009). La producción de maíz en el 2011 fue de más de 850 millones de toneladas métricas, siendo Estados Unidos, la Unión Europea, China, Brasil, México y la India, los principales productores (International Grains Council, 2011).

El maíz proporciona un estimado del 15% al 30% de la proteína y 20% de las calorías de la dieta humana a nivel mundial (FAOSTAT, 2006), lo cual indica que el maíz juega un papel importante en el contexto de la nutrición global. Desafortunadamente, aunque este cereal proporciona diferentes macro y micronutrientes necesarios para las necesidades metabólicas humanas, las cantidades de algunos nutrientes esenciales no están balanceadas o son insuficientes para consumidores que únicamente dependen del maíz como una fuente principal de alimento (Nuss y Tanumihardjo, 2010).

Los humanos necesitan consumir grandes cantidades de carbohidratos, proteínas y lípidos; pequeñas cantidades de vitaminas, macro y micro-elementos como hierro (Fe), zinc (Zn), cobre (Cu), yodo (I), selenio (Se), para crecer y desarrollarse saludable productivamente (Welch y Graham, 2004). De acuerdo con el reporte del 2009 de la Organización Mundial de la Salud (WHO, por sus siglas en inglés), la deficiencia por vitamina A es un problema público significativo en más de la mitad de los países del mundo (WHO, 2009). A nivel mundial aproximadamente una tercera parte de los niños pre-escolares y el 15% de las mujeres embarazadas están deficientes en vitamina A (WHO, 2009).

Las estrategias para prevenir y controlar la mala nutrición de micronutrientes incluyen la diversificación de la dieta, suplementación, fortificación y/o biofortificación (WHO, 2009). La biofortificación es el uso de la agricultura como medio para incrementar el nivel y la biodisponibilidad de nutrientes esenciales en partes comestibles de cultivos (Zhu *et al.*, 2007).

El objetivo principal de los programas de fitomejoramiento genético enfocados en la biofortificación de ProA es desarrollar híbridos con altos rendimientos, variedades rentables con efectividad demostrable para contribuir a la reducción en la deficiencia de vitamina A y que sean aceptados por los consumidores y productores (Bouis y Welch, 2010).

La evaluación de la aptitud combinatoria, además de ser un medio para poder conocer sobre la aptitud o la habilidad para combinar de ciertas líneas, generando híbridos con características definidas; también define si el carácter que se evaluará, es de índole aditivo o no. La determinación de la heredabilidad de un carácter, es importante para poder mejorarlo en una población; si hay alta heredabilidad de éste, entonces, la ganancia esperada por efecto de la selección, pudiera ser mayor. A mayor significancia de la aptitud combinatoria general, mayor es el efecto aditivo en la determinación de la heredabilidad. Los efectos no-aditivos dependen de la significancia de la aptitud combinatoria específica.

El conocer la aptitud combinatoria general (ACG) de una línea en combinaciones híbridas, ayuda a saber cómo es el desempeño promedio de la misma, en función a una característica determinada; en tanto que conocer la aptitud combinatoria específica

(ACE) contribuye a definir la mejor combinación híbrida para el carácter en estudio (Sprague & Tatum, 1942).

Este estudio se enfoca en la evaluación de la aptitud combinatoria y a los efectos de interacción genotipo x ambiente en el contenido de provitamina A y en el rendimiento de maíz con el fin de contribuir al desarrollo de estrategias de mejoramiento en los programas de biofortificación.

Objetivos

- Evaluar para rendimiento de grano y contenido de provitamina A, la aptitud combinatoria de 38 líneas de maíz diferenciadas en grupos heteróticos.
- Valorar la importancia de la interacción genotipo x ambiente para contenido de provitamina A en el grano de maíz.

1.1 Hipótesis

- El carácter provitamina A, está determinado por efectos aditivos; esto es, que presenta un alto nivel de heredabilidad.
- Existen líneas de alta aptitud combinatoria con las cuales pueden formarse buenos híbridos que contengan altos contenidos de provitamina A y buen rendimiento.
- Existe efecto del ambiente en el contenido de provitamina A.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Descripción del cultivo de maíz

El maíz pertenece a la familia de las *Gramíneas*. Es una planta de tipo anual, tallo verde, sistema de raíces fibrosas y hojas alternantes (Llanos, 1984; Desoirer, 1994); se reproduce vía monoica a través de la polinización cruzada de los órganos masculinos (espiga) con los femeninos (elote). Las mazorcas son de forma oblonga y maduran dentro de una envoltura protectora verde llamada totomoxtle. En las mazorcas hay numerosas flores pequeñas que evolucionan en hileras de granos a lo largo de la misma después de la reproducción (Kiesselbach, 1949).

Los granos de maíz pueden variar en color (blancos, amarillos, naranjas, rojos y negros), cantidad (300 a 1000 granos por mazorca), peso (190g a 300g por 1000 granos), espacialidad (12 a 16 granos por hilera), y en la composición nutricional (FAO, 2009). La diversidad de los ambientes bajo los cuales es cultivado el maíz, es mucho mayor que la de cualquier otro cultivo. Se originó en la zona tropical y hoy en día se cultiva desde los 58° de latitud Norte en Canadá y Rusia, hasta los 40° de latitud sur en Argentina y Chile. La mayor parte del maíz se cultiva en altitudes medias, pero se encuentra también a nivel del mar y hasta los 3800 metros sobre el nivel del mar (msnm) (en los Andes) (Carrera M., 2005).

El maíz es clasificado en dos tipos distintos dependiendo de la latitud y del ambiente en el que se cultive. El maíz cultivado en ambientes cálidos, entre la línea ecuatorial y los 30° latitud S y los 30° latitud N, es conocido como maíz tropical; mientras que aquél que se cultiva en climas fríos más allá de los 34° de latitud S y N es llamado maíz de

zona templada; los maíces subtropicales crecen en latitudes de 30° y 34° de ambos hemisferios (Dowswell *et al.*, 1996).

Tanaka y Yamguchi (1972) dividen el crecimiento y desarrollo del maíz en las siguientes fases:

- 1) Fase vegetativa inicial. Abarca desde la germinación hasta la iniciación del tallo.
- 2) Fase vegetativa activa. Comprende desde que comienza la elongación del tallo, hasta la floración femenina.
- 3) Fase del periodo de llenado del grano inicial. Incluye desde la floración hasta el crecimiento del grano. Esta es una fase de transición entre el estado vegetativo y el estado reproductivo.
- 4) Fase del periodo de llenado del grano activo. En esta etapa, el peso del grano aumenta rápidamente y las partes vegetativas sufren una pequeña disminución.

La duración de estas etapas fenológicas depende de la variedad, así como de la temperatura, la cual está determinada por la altura sobre el nivel del mar. Aproximadamente toda la etapa vegetativa (1-3) dura de 4 a 6 semanas; mientras que la última etapa dura de 3 a 8 semanas. Durante estas etapas, la planta llega a su máximo desarrollo y alcanza su madurez fisiológica (CATIE, 1990).

2.2 Importancia del maíz

Debido a su alta productividad, a los bajos requerimientos durante las labores del cultivo y por su facilidad de almacenamiento, el maíz (*Zea mays*) es considerado un alimento básico para alrededor de 200 millones de personas en el mundo,

especialmente en Latinoamérica, Asia y África (Lutz *et al.*, 2001 y USDA 2009). Dentro de los mayores consumidores de maíz, se encuentran los países del Sudeste de África, los cuales tienen un consumo *per cápita* de 85 kg al año; Lesoto, Malawi, Sudáfrica, Zambia y Zimbabue presentan un consumo promedio *per cápita* anual de 100 kg (Banco Mundial, 2011); mientras que en México se llegan a consumir hasta 125 kg por persona cada año (FAO, 2009). En Europa, América del Norte y algunas partes de Sudamérica también es un cultivo utilizado, principalmente, para alimento de ganado y como fuente de azúcar, aceite, almidón y etanol.

La producción mundial de maíz en el 2011 fue de más de 850 millones de toneladas métricas, siendo Estados Unidos, la Unión Europea, China, Brasil, México e India, los principales productores (International Grains Council, 2011). El maíz es sembrado en 156 millones de hectáreas al año, en alrededor de 100 países, los cuales se encuentran entre los 40° S y los 58° N de latitud (FAO, 2009).

La popularidad del maíz se debe gran parte a su diversa funcionalidad; y por ello diferentes tipos de comida tradicional se hacen con base en este cultivo, tal y como son: tortillas, tamales, atoles, papillas, bebidas, bocadillos, entre otros; solo en México existen alrededor de 600 platillos donde el maíz es ingrediente esencial. Granos completos, granos sin pericarpio, germen molido y endospermo son utilizados para elaborar estos alimentos. Diferentes procesos entre los que destacan la molienda, fermentación, nixtamalización, hervido, freído y secado son utilizados y varía de acuerdo a regiones y culturas (Rooney y Serna-Saldivar, 1987).

2.3 Calidad nutricional del maíz

El maíz, proporcionando un estimado del 15% a 30% de la proteína y 20% de las calorías de la dieta humana a nivel mundial (FAOSTAT, 2006), es un alimento básico para más de 200 millones de personas; y este número se espera crecerá, a medida que la población mundial alcance los 8 billones de habitantes para el 2025 (Lutz *et al.*, 2001; USDA, 2009), indicando el estado del maíz como cultivo fundamental en el contexto de la nutrición global.

Desafortunadamente, aunque los granos de maíz proporcionan diferentes macro y micronutrientes importantes para las necesidades metabólicas humanas, las cantidades de algunos nutrientes esenciales no están balanceadas o son insuficientes para consumidores que únicamente dependen del maíz como una fuente principal de alimento (Nuss y Tanumihardjo, 2010). Los granos de maíz carecen de los aminoácidos esenciales lisina y triptófano y son deficientes en ácido ascórbico (vitamina C), vitamina B, hierro (Fe) y yodo (I). El maíz blanco, consumido por los humanos a nivel mundial, no contiene carotenoides (Nuss y Tanumihardjo, 2010). La genética de la planta, la variedad, algunas condiciones ambientales, la edad de la planta y la localización geográfica, pueden afectar en la composición nutricional del grano dentro y entre variedades. En términos generales el maíz contiene alrededor de un 72 a un 73% de almidón, de 8 a 11% de proteína y de 3 a 18% de lípidos (Boyer y Shannon, 1983).

El almidón, que se localiza en el endospermo, es el carbohidrato principal del maíz (Mertz, 1970; Boyer y Shannon, 1983). Es un polímero semi-cristalino, D-gulcosa unido por los enlaces α -(1-4) y α -(1-6) glucosídicos (Care, 2004). Dos moléculas se encuentran dentro del almidón, amilosa y la amilopectina, ambos son polímeros de

D-glucosa pero son diferenciados por los vínculos entre los monómeros de glucosa (Carre, 2004; Tester *et al.*, 2004). La fibra cruda es altamente característica de la cubierta del grano de maíz (87%); sin embargo, también se encuentra en menores cantidades tanto en el endospermo como en el germen. Las fibras de la cubierta de la semilla incluyen un 67% de hemicelulosa, 23% de celulosa y 0.1% de lignina (Burge y Duensing, 1989). La fibra constituye un 7% de la composición total del grano (USDA Natl. Base de datos nutricional, 2009).

Los granos de maíz contienen alrededor del 8 al 11% de proteína, la cual es mayormente distribuida entre el pericarpio, el endospermo y el germen (Watson, 1987). Las proteínas en el grano de maíz son las albúminas, las globulinas, prolaminas (zeinas) y glutelinas.

El germen alberga las cantidades más concentradas de lípidos (85%) (Weber, 1987). Comparado con la grasa de otros cultivos, como lo es la semilla de girasol (51 g/100g) o con la soya (20 g/100g), el grano de maíz es relativamente bajo en grasa (5 g/100g) (USDA Natl. Base de datos nutricional, 2009). El aceite en maíz tiene un bajo nivel de ácidos grasos saturados: ácido esteárico y palmítico, con valores medios del 2% y 11%, respectivamente; en cambio, contiene niveles relativamente elevados de ácidos grasos poliinsaturados, fundamentalmente ácido linoleico, con un valor medio de cerca del 24%. Sólo se han encontrado cantidades reducidas de ácido linoléico y araquidónico (Bressani *et al.*, 1990).

Típicamente el maíz amarillo contiene vitaminas importantes, con excepción de la vitamina B-12. Los carotenoides, algunos con capacidad de provitamina A (ProA) y la

vitamina E como tocoferoles, son las vitaminas liposolubles predominantes en los granos de maíz. Ambos, carotenoides y tocoferoles desempeñan funciones importantes como antioxidantes (Kurilich y Juvikm, 1999) y para los seres humanos son importantes vitaminas involucradas en diferentes funciones fisiológicas. Los carotenoides presentes en el maíz amarillo son luteína, zeaxantina, β -caroteno, β -criptoxantina y α -caroteno; de los cuales los tres últimos tienen actividad de ProA (USDA Natl. Base de datos nutricional, 2009).

Factores ambientales, como la calidad del suelo, tienen un impacto substancial en el contenido mineral del grano. El germen contiene cerca de un 78% de los minerales del grano y el endospermo tiene menos del 1% (Earle *et al.*, 1946). El fósforo (P), potasio (K) y magnesio (Mg) son los minerales más frecuentes en el maíz, proporcionando cerca del 90% del contenido mineral, el cual se encuentra en su totalidad, en el embrión (Miller, 1958). El cuarto elemento más abundante es el azufre (S), en su mayoría presente en una forma orgánica como constituyente de metionina y cistina (Watson, 1987). Los niveles de zinc (Zn) en promedio, son de los $20\mu\text{gg}^{-1}$, 30% se encuentra en el endospermo (Inglett, 1970b; Ortiz-Monasterio *et al.*, 2007). Los niveles totales de calcio (Ca) y Fe son muy escasos y los niveles de fitato concentrado en el germen retardan la biodisponibilidad de estos minerales (Wright, 1987; Bohn *et al.*, 2008).

Uno de los ejemplos iniciales en trabajos de biofortificación de maíz para consumo humano, es el de mejorar la calidad proteica incrementando sus contenidos de lisina y triptófano; de esta forma se han desarrollado maíces con calidad proteica (QPM por sus siglas en inglés), los cuales son cultivares que tienen el doble del contenido de los

aminoácidos esenciales que se encuentran en cultivares de maíz convencional y consecuentemente están mejorados nutricionalmente (Bjarnason y Vasal, 1992; Vivek *et al.*, 2008).

La base genética involucrada en el incremento de triptófano y lisina en el QPM, es la mutación en el gen recesivo opaco -2 (O2). La mutación del gen O2 incrementa la proporción de estos aminoácidos al reducir la síntesis de zeína, en la cual resulta un aumento en la síntesis de proteínas no zeínas que son ricas en lisina y triptófano (Mertz *et al.*, 1964). Estos valores nutricionales mejorados en los materiales QPM, han mostrado ser repetidamente eficaces para niños que basan sus dietas en grandes porciones de maíz (Graham *et al.*, 1996) y para alimento porcino (Sullivan *et al.*, 1989; Burgoon *et al.*, 1992).

El maíz también presenta diferentes compuestos nutraceuticos. Los compuestos nutraceuticos no son necesariamente nutrientes que tradicionalmente han sido asociados con deficiencias en la dieta, sino que son compuestos cuyo consumo ayuda a prevenir e inclusive a tratar las enfermedades crónico-degenerativas. Los compuestos nutraceuticos, se clasifican de acuerdo con sus propiedades químicas y a su actividad biológica. La mayoría de los nutraceuticos tienen propiedad antioxidante; por lo que contrarrestan a los radicales libres responsables de causar la oxidación de membranas y daño al ADN desencadenando el cáncer, problemas cardiovasculares, fibrosis y envejecimiento.

En el maíz destacan los compuestos fenólicos, las antocianinas y los carotenoides entre otros (Tsuda *et al.*, 2003)

2.4 Deficiencias de vitamina A y consecuencias en la salud humana

Se ha determinado que la deficiencia de los 4 micronutrientes que más afectan a la mayoría de las personas (debido a los niveles inadecuados en la dieta) son: Fe, I, Zn y vitamina A (Welch y Graham, 1999). En países en vías de desarrollo, tres de las principales 10 causas de muerte, están asociadas con deficiencias de vitamina A, tales como diarrea, malaria, nacimientos prematuros y con bajo peso al nacer (WHO, 2011).

La vitamina A es esencial para el funcionamiento normal del sistema visual y es requerido para el crecimiento, desarrollo, la función inmune y la reproducción (Jayarajan *et al.*, 1980). La deficiencia de vitamina A es la principal causa de ceguera evitable en infantes (Maida *et al.*, 2008).

De acuerdo con el reporte del 2009 de la Organización Mundial de la Salud (WHO, por sus siglas en inglés), la deficiencia por vitamina A es un problema público significativo en más de la mitad de los países del mundo (WHO, 2009). A nivel mundial, aproximadamente una tercera parte de los niños pre-escolares y el 15% de las mujeres embarazadas, presentan deficiencias en esta vitamina (WHO, 2009).

Mundialmente las deficiencias de vitamina A en niños está asociada con alrededor del 20% de las muertes por sarampión (Beaton *et al.*, 1993), 24% de las muertes por diarrea, 20% con las incidencias de malaria (Shankar *et al.*, 1999) y 3% relacionadas con las muertes por otras causas infecciosas. La deficiencia de vitamina A está asociada con el 20% de las muertes maternas. En el Sur de Asia y en África se encuentra la tasa más alta de enfermedades relacionadas con la deficiencia de la vitamina A y con la mortalidad materna (Rice *et al.*, 2004; WHO, 2009).

En los lugares cuya población es deficiente en vitamina A, se debe a que los alimentos ricos en ésta, como la leche, el huevo y el hígado o con carotenoides con actividad provitamínica A como zanahorias, camote y calabaza, son escasos o poco accesibles para la mayoría de la gente (Jalal *et al.*, 1998).

Estrategias para prevenir y controlar la malnutrición tienen como objetivo incrementar el consumo de micronutrientes a través de una diversificación de dieta, suplementación, fortificación o biofortificación. Dichas estrategias deben ser consideradas como complementos con sus importancias relativas dependiendo de condiciones locales y de requerimientos específicos (WHO, 2009).

La diversificación en las dietas tiene como objetivo añadir alimentos densos en micronutrientes basadas en cultivos básicos. Las mayores limitaciones de la diversificación en la dieta son la disponibilidad y la accesibilidad de alimentos densos en micronutrientes, especialmente en entornos de escasos recursos; así como también el cambio de comportamiento y la educación a la población (WHO, 2009).

La suplementación es la disposición de dosis, relativamente grandes de micronutrientes en forma de píldoras o jarabe para tratar o prevenir deficiencias. Los programas más comunes de suplementación incluyen la disposición de Fe y folato a mujeres embarazadas y vitamina A a niños. Las limitaciones de esta estrategia son el costo del suministro y el poco compromiso de los gobiernos para abastecer apropiadamente a las zonas más necesitadas (WHO, 2009).

La fortificación de alimentos con micronutrientes es una estrategia preventiva que ha sido exitosamente usada en varios países; en los que se ha fortificado la sal con yodo y

la harina de trigo con Fe y folato. Uno de los inconvenientes de la fortificación de alimentos es que las poblaciones rurales normalmente tienen acceso limitado a alimentos procesados (WHO, 2009).

La biofortificación es el uso de la agricultura como medio para incrementar el nivel y la biodisponibilidad de nutrientes esenciales en partes comestibles de cultivos. La fertilización, el mejoramiento genético convencional y el uso de la ingeniería genética son las metodologías utilizadas (Zhu *et al.*, 2007). Dentro de la iniciativa Harvest Plus (www.harvestplus.org) el mejoramiento genético tradicional ha sido el enfoque para mejorar cultivos básicos (frijól, maíz, arroz, trigo, mandioca, camote etc.) (Graham y Welch, 1996; Graham y Welch, 2001) con Fe, Zn y carotenoides de ProA (Pfeiffer y McClafferty, 2007; Bouis y Welch, 2010).

El objetivo principal de los programas de fitomejoramiento genético enfocados en la biofortificación de ProA es desarrollar híbridos con altos rendimientos, variedades rentables con efectividad demostrable para reducir la deficiencia de vitamina A y que sean aceptados por los consumidores y productores (Bouis y Welch, 2010). Un panel de nutriólogos aconsejando a la iniciativa Harvest Plus determinaron que las variedades biofortificadas de maíz deberían contener $15\mu\text{g g}^{-1}$ de ProA para tener una alta probabilidad de reducir la deficiencia de vitamina A (Pixley *et al.*, 2012).

2.5 La provitamina A en maíz

La vitamina A que se encuentra en forma de carotenoides en la planta, algunos de estos con capacidad de ProA, es una vitamina lipo-solubles que desempeña, junto con los tocoferoles, funciones importantes como antioxidante (Kurilich y Juvikm, 1999), así

como también, son esenciales para los humanos pues están involucradas en diferentes funciones fisiológicas. Todos los genotipos de maíces amarillos contienen carotenoides; sin embargo, la fracción de carotenoides con actividad ProA son la β -cryptoxantina, α y β -caroteno, los cuales pueden ser convertidos en vitamina A. Estos compuestos se encuentran generalmente en bajas proporciones en el grano de maíz (ej. 10 a 20%) comparado con zeaxantina y luteína, carotenoides sin actividad ProA (cada uno con alrededor del 30 al 50% del total de carotenoides) (Brenna y Bernardo, 2004; Howe y Tanumihardjo, 2006). El β -caroteno y la β -cryptoxantina son las ProA más abundantes en maíz, mientras que el α -caroteno está presente en cantidades mucho menores (Egesel *et al.*, 2003). En general la mayoría de los maíces amarillos presentan $\leq 2\mu\text{g g}^{-1}$ de Provitamina A en el grano (Egesel *et al.*, 2003; Yan *et al.*, 2010).

De acuerdo con estudios en los seres humanos, el Instituto de Medicina de Estados Unidos (IOM por sus siglas en inglés) ha generalizado los factores de la conversión dietética en $12\mu\text{g}$ de β -caroteno y $24\mu\text{g}$ de otros carotenoides con actividad provitamínica A a $1\mu\text{g}$ de retinol. La variación de los factores de conversión en humanos está influenciado por las distintas especies de carotenoides, el tamaño de la dosis, la matriz de la alimentación, la edad, el género, la salud y el estado nutricional del individuo (Tanumihardjo *et al.*, 2010).

En un estudio de bioeficacia usando jerbos deficientes en vitamina A y proporcionándoles una alimentación *ad libitum* se encontró un factor de conversión de β -caroteno a retinol de: $2.8\mu\text{g}: 1\mu\text{g}$, el cual es mucho más eficiente que el previsto por el Instituto de la Salud de Estados Unidos (12:1) (Howe y Tanumihardjo, 2006). Los

autores creen que la tasa eficiente de la bioconversión fue debido a la presencia de otros carotenoides con actividad provitamínica A y al contenido de aceite en el grano de maíz (normalmente alrededor del 4%).

Estudios recientes realizados por Li *et al.* (2010) y por Muzhingi *et al.* (2011) encontraron que el β -caroteno en papillas hechas de maíces ricos en ProA, fue altamente biodisponible cuando fue consumido por adultos sanos. Factores de conversión fueron de 6.38 μg (Li *et al.*, 2010) o de 3.2 μg (Muzhingi *et al.*, 2011) de β -caroteno a 1 μg de retinol.

Además de la variación existente de las concentraciones de ProA *per se*, hay una amplia variación en los perfiles de carotenoides en el maíz, inclusive entre líneas puras con un estimado similar de actividad provitamínica A (Islam, 2004; Ortiz-Monasterio *et al.*, 2007).

La ruta metabólica para la síntesis de carotenos está bastante elucidada. Los genes que codifican para enzimas involucradas en la acumulación de carotenoides en los granos de maíz incluyen fitoeno sintetasa (*crtB*), enzimas de desaturación (*crtl*), licopeno ϵ -ciclaza (*lyc ϵ*) y licopeno β -ciclaza (*lyc β*). Licopeno β -ciclaza convierte los *todo-trans-licopeno* a β -caroteno, mientras que el ϵ -ciclaza convierte los *todo-trans-licopeno* en α -caroteno y luteína (DellaPenna y Pogson, 2006). La variabilidad natural en el gen β -hidroxilasa 1 (*hydb 1*), la cual subyace en un QTL identificado, ha sido reportada que explica el 23% de las cantidades de β -caroteno en granos y 37% del radio de β -caroteno en los carotenoides totales. Un análisis combinado entre los genes *hydb1* y *lyc ϵ* , indica que el 43% y 56% de la variación fenotípica para β -caroteno y β -

criptozantina y el radio total de carotenoides respectivamente, se tienen en consideración (Yan *et al.*, 2008).

2.6 La biofortificación

La biofortificación es una estrategia prometedora para incrementar el estado nutricional y la salud de poblaciones pobres en áreas tanto rurales como urbanas de países en vías de desarrollo (Bouis, 2003). Incluye las siguientes estrategias en agricultura: fortificación de cultivos, abarcando el uso de fertilizantes; mejoramiento genético tradicional, mutagenesis o métodos transgénicos (Glenn, 2007; Zhu *et al.*, 2007).

El mejoramiento genético tradicional aprovecha la variación genética natural del cultivo; aunque es un proceso relativamente lento. Los enfoques mutagénicos y transgénicos en los que el ADN objetivo es manipulado o introducido en embriones inmaduros respectivamente, son una alternativa cuando la variabilidad genética del carácter de interés no permite usar mejoramiento convencional (Altpeter *et al.*, 2005; Zhu *et al.*, 2007). El uso de fertilizantes es considerado como un importante enfoque complementario en los programas de mejoramiento genético para incrementar la concentración de micronutrientes a través de la aplicación de los mismos en los cultivos; mostrándose como una solución rápida de biofortificación (Yilmaz *et al.*, 1997).

Se han identificado tres prerequisites para hacer a la biofortificación exitosa: i) un cultivo biofortificado debe tener altos rendimientos y debe ser rentable para el agricultor; ii) el cultivo biofortificado debe ser eficaz y efectivo reduciendo la malnutrición de micronutrientes en poblaciones objetivo, y iii) el cultivo biofortificado

debe ser aceptable para los agricultores y consumidores en regiones objetivo (Hotz y McClaffery, 2007).

La meta actual del proyecto Harvest Plus para la mejora de carotenoides en el maíz es de $15\mu\text{g g}^{-1}$ de ProA de peso seco (PS), el cual se basó en los estimados de bioeficacia del metabolismo de los carotenoides; y podría proveer los Requerimientos Estimados Promedio (REP) de vitamina A para niños, con una ingesta diaria de 200g de maíz seco (Harvest Plus; Instituto de Medicina, 2001; Tanumihardjo, 2008).

Se han logrado progresos significativos en la biofortificación de ProA en maíz durante los últimos 7 años. La diversidad genética encontrada en el contenido de carotenoides oscila entre los $0\text{-}15\mu\text{g g}^{-1}$ de ProA (Ortiz-Monasterio *et al.*, 2007). También existe una gran diversidad en los haplotipos (los cuales son bloques cortos de ADN que son transmitidos juntos de generación en generación, exhibiendo variación entre individuos) de los genes que codifican enzimas que afectan las concentraciones de ProA en los granos de maíz, lo cual ha contribuido significativamente al avance del proceso de mejoramiento genético para dicho carácter (Pixley *et al.*, 2012).

Pixley *et al.* (2012) plantean las siguientes etapas generales para desarrollar un maíz biofortificado para ProA: 1) Seleccionar el germoplasma para dirigir el proyecto de mejoramiento genético, incluyendo las mejores líneas elite para características agronómicas y seleccionar líneas con altos contenidos de ProA; 2) las líneas agronómicamente deseables se deberán cruzar con aquellas con altos contenidos de ProA; 3) las F_1 obtenidas se retrocruzarán con su respectiva línea elite agronómicamente deseable; 4) Se deberá hacer una selección durante las primeras 2

generaciones de mejoramiento; 5) Las S_2 seleccionadas se cruzarán en campos de aislamiento utilizando uno o dos probadores para formar híbridos; 6) los híbridos formados se establecerán en la primera etapa (S_1) de evaluación de ensayos, usando 3 localidades aproximadamente; 7) Los datos de rendimiento y de otras variables agronómicas obtenidas de los ensayos S_1 se utilizarán para seleccionar aproximadamente un 20% de las líneas, las cuales posteriormente se cruzaran con 3 probadores para poder evaluar, a mayor profundidad, su comportamiento híbrido en ensayos de la etapa 2 (S_2). Los ensayos S_2 son establecidos normalmente entre cinco a seis localidades; 8) Las mejores líneas (10-20%) evaluadas en los ensayos S_2 se seleccionarán; 9) y nuevamente se cruzarán con 3 probadores; 10) las F_1 obtenidas se establecerán en ensayos de la etapa 3 (S_3) en 6 a 8 localidades; 11) después de tener 3 ciclos de evaluación de las líneas en comportamiento híbrido, éstas mismas son enviadas a Ensayos Nacionales de Rendimiento (NPT por sus siglas en inglés) para poder liberar las líneas más prometedoras. Se requieren dos años para soportar la aplicación de la liberación de las variedades y su futura comercialización. Durante este tiempo, son conducidas numerosas actividades paralelas para validar la aceptación por parte del productor y del consumidor de los híbridos prometedores; 12) se empieza a crear interés, demanda y se comienza a ofrecer semilla de dichos híbridos para posteriormente comercializarla (Pixley *et al.*, 2012).

2.7 Aptitud combinatoria general y específica

El conocimiento sobre la aptitud combinatoria es esencial para seleccionar parentales adecuados para la hibridación e identificación de híbridos prometedores para el desarrollo de variedades mejoradas para una agro-ecología diversa (Alabi *et al.*, 1987).

La aptitud combinatoria de una línea se basa en la habilidad de la misma para producir híbridos superiores en combinación con otras líneas. La aptitud combinatoria general (ACG) fue definida por Sprague y Tatum (1942) como el rendimiento promedio de un genotipo en combinaciones híbridas, mientras que la aptitud combinatoria específica (ACE) está definida para los casos en los que combinaciones híbridas específicas tienen un desempeño mejor o peor que el esperado sobre la base del rendimiento promedio.

Falconer (1989) observó que la ACG está directamente relacionada con el valor genético del padre y está asociado con efectos génicos aditivos, mientras que la ACE está asociada con efectos génicos no aditivos (Rojas y Sprague, 1952). El efecto génico en el valor de una característica cuantitativa puede estar representado como la suma de los efectos génicos aditivos más los no aditivos (Falconer y Mackay, 1996).

Los estimados del efecto aditivo en una característica cuantifican la proporción de su varianza, la cual se da debido a alelos individuales, independientes de los efectos de otros alelos en el mismo o en otro loci. El efecto no aditivo se da debido a las interacciones entre alelos; incluye efectos de dominancia que se derivan de interacción entre alelos en el mismo locus; los efectos epistáticos, los cuales dependen de combinaciones de alelos en múltiples loci (Falconer y Mackay, 1996) y de la interacción entre genotipo y medio ambiente, la cual se refiere a la respuesta diferencial de genotipos o cultivares a través de una serie de ambientes (Kang, 1998, 2004).

La estimación de los valores genéticos y patrones heteróticos se puede lograr con diseños factoriales, tal como el diseño dialélico y el diseño II de Carolina del Norte

(Sprague y Tatum, 1942; Comstock y Robinson, 1949; Griffing, 1956), pero son modelos demandantes en tiempo y en recursos.

El diseño dialélico puede ser muy útil para proporcionar información sobre el rendimiento de poblaciones parentales y su patrón heterótico en cruzas cuando el número de parentales es pequeño (Miranda, 1985). Como su nombre lo indica, las cruzas bajo este diseño se hacen en pares excluyendo las cruzas recíprocas y debido a la logística de producir y evaluar cruzas, el número de parentales incluidos bajo este diseño es menor a 20 (Griffing, 1956; Hallauer y Miranda, 1988). La diferencia principal con el diseño II, es que en el diseño dialélico los mismos individuos son usados como parentales (Hallauer *et al.*, 1988; Carena, 2005; Melani y Carena, 2005). De acuerdo con que tan completos estén los dialelos, el diseño dialélico puede ser analizado a través de varios métodos, tal y como lo propone Griffing (1956):

- Método I. Incluye todas las posibles cruzas.
- Método II. Es el comúnmente utilizado y usa un conjunto de cruzas y de parentales, pero no de recíprocas.
- Método III. Incluye dos conjuntos de cruzas sin parentales.
- Método IV. Sólo incluye un conjunto de cruzas sin recíprocas ni parentales.

El diseño II de Carolina del Norte, además de estudiar los efectos de ACG y ACE, es también útil para estimar los efectos maternos y tiene ventajas sobre el dialelo cuando varios parentales están involucrados. Por medio del diseño II de Carolina del Norte se podría estimar tanto el rendimiento, como también, otras características secundarias de ambos parentales (hembra y macho) a través de su comportamiento híbrido

(Hallauer y Miranda, 1988); lo cual es útil ya que generalmente los efectos maternos si no se controlan, podrían sobrestimar la varianza de ACG para rendimiento y otras características secundarias; consecuentemente, la heredabilidad sería igualmente sobrestimada, lo que pudiera engañar a fitomejoradores en la adopción de una estrategia de selección errónea (Derera *et al.*, 2007). El diseño II de Carolina del Norte utiliza dos conjuntos de líneas; el primero funcionará únicamente como macho, mientras que el segundo actuará tan solo como hembra. Cada uno de los machos es cruzado con cada una de las hembras. La variación fenotípica obtenida de estas cruzas se divide de acuerdo con: i) diferencias entre machos; ii) diferencias entre hembras; y a la iii) interacción entre machos y hembras (Hinkelmann, 2011). Los cuadrados medios de las hembras y de los machos proporcionan estimados independientes del componente aditivo de variación. Además, los cuadrados medios de la interacción entre los rendimientos de las hembras y de los machos es un estimado de la varianza genética no aditiva.

Líneas puras no relacionadas o que son derivadas de poblaciones mejoradas y genéticamente amplias, generalmente tienen buena ACG cuando son cruzadas con probadores comerciales que pudieran ofrecer altos beneficios a la industria semillera (Carena, 2005a). Barata y Carena (2006) demostraron que las líneas puras desarrolladas de poblaciones genéticamente amplias proporcionaron una buena aptitud combinatoria con líneas derivadas de otros grupos heteróticos.

La valoración de la ACG y ACE en maíces con alto valor nutricional en aminoácidos ha sido también, objeto de estudio para poder hacer un uso eficiente de dichos materiales (Machida *et al.*, 2010). Estudios previos en maíces QPM revelaron que los efectos de

ACG fueron significativos e importantes para rendimiento y para las características nutricionales de concentración proteica, concentración de triptófano en el grano y la concentración de triptófano en la proteína (Vasal *et al.*, 1993a y 1993b; Pixley y Bjarnason, 1993). Machida *et al.* (2010) encontraron que los genes con efectos aditivos fueron los que determinan las características de calidad nutricional (contenido de proteica y de triptófano); sin embargo, también encontró que los efectos de ACE fueron significativos; lo cual sugiere que los índices significativos de ACE se dieron debido, ya sea a una interacción positiva entre dos líneas que contribuyeron poco a los índices de ACG en cuanto los valores nutricionales, o a la interacción positiva de una línea con alta ACG en lo referente a características nutricionales con otra línea con una baja ACG para los mismos caracteres.

En relación con la ACG de los carotenoides en maíz, Egesel *et al.* (2003) reportaron que los efectos de ACG, o la acción aditiva del gen, representaron del 72 al 87% de la variación de β -caroteno, β -criptozantina y de los carotenoides totales en un cruzamiento dialélico entre 10 líneas de maíz. Asimismo, la ProA parece estar controlada por pocos genes y la heredabilidad de la característica es alta (Egesel *et al.*, 2003b; Menkir y Maziya-Dixon, 2004; Gruneberg *et al.*, 2005).

2.8 Efectos de interacción Genotipo x Ambiente

La interacción entre Genotipo y Ambiente (IGA) es un fenómeno universal cuando diferentes genotipos (cultivares) son evaluados a través de diferentes ambientes (Cooper y Hammer, 1996; Brancourt-Hulmel y Lecomte, 2003; Yan y Kang, 2003). IGA se refiere a la respuesta diferencial de genotipos o cultivares a través de una serie de

ambientes (Kang, 1998, 2004). La IGA complica la selección de genotipos superiores (Magari y Kang, 1993; Ebdon y Gauch, 2002) y reduce la correlación entre los valores fenotipos y genotipos, reduciendo así el progreso de la selección (Comstock y Moll, 1963). La IGA es considerada una de las razones principales del fracaso del mejoramiento genético vegetal de pequeños productores con pocos recursos (Ceccarelli *et al.*, 2006), y es por lo anterior que en los programas de mejoramiento genético los estudios de IGA deben ser parte del proceso.

En los ensayos multi-ambientes (EMA), el diferencial de genotipos responde a condiciones ambientales variables, especialmente cuando está asociado con los cambios en la clasificación genotípica, lo cual dificulta la identificación de híbridos superiores y estables (Epinat-Le Signor *et al.*, 2001).

Al sembrar cultivares en diferentes ambientes, los cultivares con mayor rendimiento y más estables se pueden identificar (Lu'quez *et al.*, 2002). Cuando se seleccionan genotipos para una amplia adaptación, los fitomejoradores buscan, preferentemente, que haya ausencia de IGA (Matus-Cádiz *et al.*, 2003). Por lo tanto, la estimación de la estabilidad de rendimiento se vuelve importante para identificar genotipos consistentes y que produzcan altos rendimientos (Kang, 1998). Muchos modelos estadísticos de estabilidad se han utilizado para determinar si los cultivares evaluados en EMA son estables (Flores *et al.*, 1998; Hussein *et al.*, 2000; Robert, 2002; Sabaghnia *et al.*, 2006).

Aunque hay suficiente evidencia de que la selección bajo condiciones de estrés puede acelerar las ganancias de reproducción (Bänzinger *et al.*, 1997; Ceccarelli *et al.*, 1992;

Pederson y Rathjen, 1981) la dificultad de escoger ambientes apropiados para la selección, podría limitar la identificación de genotipos superiores (Blum, 1979).

La expresión de los micronutrientes y el grado de las IGA a través de diferentes ambientes, determina la proyección, el mejoramiento y las metodologías de evaluación usadas, lo cual refleja la heredabilidad de la característica, la variación genética y por lo tanto las ganancias genéticas potenciales (Reynolds *et al.*, 2005).

En carotenoides se ha reportado una variación genotípica significativa en maíces con endospermo amarillo adaptados a climas templados (Kurlich y Juvick, 1999). Además, el β -caroteno es conocido por ser una característica heredable en maíces templados (Wong *et al.*, 1998); sin embargo, hay información limitada relacionada con el rango de variación genética del β -caroteno en el germoplasma de maíces tropicales con endospermo amarillo.

La utilidad de variedades de maíz con endospermo amarillo como fuente de carotenoides en un programa de mejoramiento genético, depende de la estabilidad de la expresión de estos compuestos a través de diversos ambientes. Estudios sobre las IGA en maíces templados no han mostrado significancias en la interacción de genotipo x año para lo relacionado a los carotenoides (Quackenbush *et al.*, 1966); no obstante, hay poca información disponible sobre el efecto del ambiente y su interacción con el genotipo en lo referente al contenido de β -caroteno en maíces tropicales con endospermo amarillo. El conocimiento sobre la presencia y la IGA puede ayudar a los fitomejoradores a seleccionar los métodos apropiados de mejoramiento y a seleccionar los procedimientos y la intensidad de las prueba a utilizar (Baker, 1969).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Evaluación morfológica

3.1.1 Material genético

Se utilizaron materiales del proyecto Harvest Plus del Programa Global de Maíz del CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo). Se emplearon 38 líneas de maíz, 22 de ellas pertenecientes al grupo heterótico A y 16 al grupo heterótico B (Cuadro A-1), según definiciones de CIMMYT. Se usó el Diseño II de Carolina del Norte (cruza X probador) (Robinson, 1952); para ello, cada una de las líneas se cruzó con tres híbridos, los cuales fungieron como probadores (Cuadro A-2). Las líneas pertenecientes al grupo heterótico A se cruzaron con probadores del grupo heterótico B y las líneas del grupo heterótico B se cruzaron con probadores del grupo heterótico A (Cuadro A-3).

3.1.2 Origen del material genético

Las 38 líneas que participaron en las evaluaciones del estudio se encontraban en un nivel endogámico S_2 , S_3 o S_4 y provinieron de selección entre 414 líneas (284 pertenecientes al grupo heterótico A y 130 pertenecientes al grupo heterótico B). La selección se basó en 2 criterios:

- 1) La primera selección se realizó entre grupos de líneas hermanas antes de la floración, escogiendo las de mayor potencial agronómico para usarlas como machos en la formación de híbridos. Se escogieron 207 líneas.
- 2) La segunda clasificación consistió en elegir las líneas con buena eficiencia en cruzamientos para generar los híbridos. Se eligieron las líneas que pudieron

cruzarse exitosamente con los tres probadores; resultando 76 líneas con sus correspondientes 228 híbridos. Estos híbridos se utilizaron para los estudios de rendimiento y otros caracteres agronómicos, los cuales se establecieron en ensayos de rendimiento.

- 3) Para los estudios de provitamina A (ProA), se seleccionaron 38 líneas de las 76 resultantes del criterio número 2. Los 114 híbridos derivados de las mismas ($38 \times 3 = 114$), se autofecundaron para evitar un posible efecto de xenia sobre el contenido de carotenos, que puede resultar si el grano analizado hubiese sido polinizado aleatoriamente por otros genotipos (híbridos vecinos en cada ensayo). En cada localidad del estudio se autofecundaron las dos primeras plantas de cada parcela en la primera repetición; no obstante, no se lograron todas las autofecundaciones en las distintas localidades donde se establecieron los ensayos; ya que de las 456 F_1 (38 líneas x tres probadores x cuatro localidades) se lograron autofecundar 317. El número de autofecundaciones logrado en cada ensayo fue distinto (Cuadro 1). Las 317 F_2 o F_1 , según sea el caso se utilizaron para generar los análisis de varianza (ANOVAS) de ProA y realizar los análisis de ACG y ACE de los caracteres de ProA y rendimiento de las líneas respectivamente (Cuadro 1).

Cuadro 1. Conformación de ensayos de acuerdo a líneas seleccionadas para análisis de provitamina A. autofecundaciones esperadas para el estudio vs autofecundaciones logradas.

Ensayo	No. de líneas utilizadas	No. de Híbridos	No. de autofecundaciones esperadas	No. de autofecundaciones logradas
1-A	6	18	72	61 (84%)
2-A	9	27	108	55 (51%)
3-A	7	21	84	37(44%)
1-B	16	48	192	164(85%)
Total	38	114	456	317(69%)

*Los mismos 3 probadores para los Ensayos 1A, 2A y 3A y otros 3 probadores distintos para el Ensayos 1B.

3.1.3 Descripción de la zona de estudio

Los experimentos se sembraron en dos localidades: Tlaltizapán, Morelos, ubicada a los 18°41´ Norte y 99°07´ Oeste, con una altitud de 945 metros sobre el nivel del mar (msnm), una temperatura media anual de 23.5°C y una precipitación pluvial promedio de 840 mm anuales; y en Agua Fría, Puebla; localizada a los 20°23´ Norte y 97°31´Oeste, con una altitud de 120 msnm, una temperatura media anual mayor a los 22°C y una precipitación pluvial de 1900 mm anuales. La formación de los híbridos se llevó a cabo en Agua Fría, Puebla y los híbridos se sembraron en las dos localidades Agua Fría y Tlaltizapán.

3.1.4 Diseño y unidad experimental

Los híbridos se organizaron en cuatro ensayos (tres del grupo heterótico A y uno del grupo heterótico B) considerando el grupo heterótico al que los híbridos pertenecían y el nivel de endogamia de las líneas de las que partieron los híbridos.

El diseño experimental para cada ensayo fue el alfa latice (Patterson *et. al.*, 1978) con dos repeticiones por localidad. Este diseño es de bloques incompletos al azar, en el cual cada par de tratamientos (híbridos) ocurrió cero ó una vez (0,1) en un mismo bloque incompleto.

Para el análisis de calidad nutricional se utilizó un modelo mixto (Crossa, 1993), debido a que no se utilizaron todos los híbridos o entradas establecidos en los ensayos en campo por causa del alto costo que implica analizar bioquímicamente cada una de ellas; además de que no se lograron autofecundar todos los híbridos deseados para la determinación de carotenos en el grano.

Los ensayos incluyeron varios híbridos que eran de interés para el programa de mejoramiento Harvest Plus pero que no formaron parte del estudio de la tesis. En total se evaluaron 332 híbridos, de los cuales se obtuvieron ANOVAS para rendimiento; de ellos, 95 se utilizaron para generar ANOVAS de ProA, así como también, las aptitudes combinatorias tanto de ProA como de rendimiento (Cuadro 2).

Cada unidad experimental consistió de un surco de 5.5 m de longitud y de 0.75 m de ancho, sembrando 26 plantas por surco, lo que es equivalente a 63,030 plantas por hectárea.

Los ensayos se sembraron en Tlaltizapán y Agua Fría bajo los siguientes manejos agronómicos:

- 1) Tlaltizapán: Condiciones Normales
- 2) Tlaltizapán: Labranza de Conservación
- 3) Agua Fría: Condiciones Normales
- 4) Agua Fría: Estrés Hídrico

Los caracteres agronómicos se evaluaron en ambas localidades y en los cuatro manejos agronómicos usando dos repeticiones por ensayo; para la determinación del contenido de ProA y los demás caracteres nutricionales en el grano, se utilizaron las dos localidades y los dos tratamientos por localidad, pero usando una sola repetición por tratamiento.

Cuadro 2. Descripción de Ensayos establecidos para las evaluaciones del estudio.

Ensayo	Total de entradas para el análisis de rendimiento	Total de cruzas para el análisis completas de rendimiento	Total de entradas usadas para el análisis de ProA y para ACG y ACE de rendimiento y ProA	Total de entradas para el análisis de ProA	Testigos	Núm. de bloques x Núm. de unidades experimentales	Núm. de repeticiones
1A	96	60	16	15	4	24x8	2
2A	90	66	19	9	1	18x10	2
3A	50	36	16	9	1	10x10	2
1B	96	66	44	9	5	24x8	2
Total	332	228	95	42	11	-	-

3.1.5 Manejo del cultivo

La formación de cruzas se llevó a cabo en Agua Fría, Puebla; con dos fechas de siembra:

- El 24 de Noviembre del 2008, se sembró la primera fecha de los probadores que posteriormente fueron utilizados como hembras.
- El 1 de Diciembre del 2008 se plantó la segunda fecha de los probadores; y al mismo tiempo, todas las líneas, las cuales, una vez seleccionadas se utilizaron como machos para formar las cruzas.
- Los ensayos experimentales se fertilizaron con 150 kg N, 80 kg P y 30 kg ha⁻¹.

La fertilización se realizó en dos aplicaciones:

1. Antes de la siembra se aplicaron 164 kg ha⁻¹ de urea; 173.91kg ha⁻¹ de superfosfato de calcio triple; 50 kg ha⁻¹ de cloruro de potasio; y 20 kg ha⁻¹ del insecticida organofosforado Lorsban 5G para el control de plagas del suelo, como lo son las larvas de gusano trozador (*Agrotis sp.*), larvas de *Diabrotica speciosa* y gallinas ciegas (*Phyllophaga sp.*)
2. 45 días después de la siembra, cuando la planta ya tenía una altura aproximada de 40 a 50 cm se realizó una segunda aplicación de N utilizando 164 kg ha⁻¹ de urea.

La evaluación de ensayos se dividió en dos periodos:

1. Tlaltizapán, Morelos. Se establecieron los ensayos correspondientes al tratamiento de “Condiciones Normales” el 28 de mayo del 2009. Una semana

más tarde se sembraron los ensayos bajo el sistema de “Labranza de Conservación”.

2. Agua Fría, Puebla. Se establecieron los ensayos correspondientes al tratamiento “Condiciones Normales” el día 5 de diciembre del 2009. Una semana más tarde correspondió a los ensayos bajo el sistema de “Estrés Hídrico”.

Los ensayos establecidos en Agua Fría se fertilizaron de la manera previamente indicada; sin embargo, aquellos sembrados en Tlaltizapán se fertilizaron con 160 kg N, 60 kg P y 25 kg K ha⁻¹, respectivamente.

La fertilización se realizó en dos aplicaciones:

1. Previo a la siembra se aplicaron 130.43 kg ha⁻¹ de fosfato diamónico (DAP), más 122.86 kg ha⁻¹ de urea; más 41.66 kg ha⁻¹ de cloruro de potasio. Asimismo se aplicaron 20 kg ha⁻¹ del insecticida granulado Force para el control de gusanos blancos.
2. 45 días después de la siembra, cuando la planta ya tenía una altura aproximada de 40–50 cm se realizó una segunda aplicación de N; empleando 173.91 kg ha⁻¹ de urea.

3.1.6 Autofecundación de plantas para análisis de carotenos

Durante la época de floración se realizaron autofecundaciones en los híbridos seleccionados; para ello se jilotearon las primeras dos plantas de cada surco en la primera repetición de todos los ensayos y posteriormente se autopolinizaron. La mazorca autofecundada (F₂) se cosechó un día antes de la cosecha de cada ensayo, y el grano de dicha mazorca se conservó para su análisis en el laboratorio.

3.1.7 Variables evaluadas en campo

1) Días a floración masculina (DFM); contabilizados desde el día de la siembra hasta que el 50% de las plantas presentó anteras dehiscentes, a partir de cinco plantas al azar por unidad experimental.

2) Altura de planta (AP) y altura de mazorca (AM); se midieron en cm desde la base del tallo hasta la base de la espiga, para el caso de altura de planta; y desde la base del tallo hasta el punto de inserción de la primera mazorca para altura de mazorca.

3) Peso total de mazorcas en campo (PC) en gramos.

4) Por ciento de humedad del grano (FH), el cual fue determinado mediante el medidor de humedad Steinlite SB900.

5) Rendimiento de grano, en toneladas por hectárea (Rend) ajustado a 12.25% de humedad, el cual se estimó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{REND} = (\text{PC} / 1000) * ((100 - \text{FH}) / (100 - 12.25)) * (10 / (.75 \text{ m} * 5.5\text{m})) * 0.8$$

*Se utilizó un valor de 0.8 para el porcentaje de desgrane, debido a que no se desgranaron los materiales.

3.2 Determinación de carotenoides en el grano de maíz

Utilizando la técnica de cromatografía líquida de alta definición, el contenido de carotenos se determinó en 317 F₂'s (Cuadro A-3). Se siguió el protocolo descrito por Kurlich *et al.* (1999).

Para el procedimiento de molienda:

- 1) Se tomaron de 20 a 30 semillas por muestra. Primero se utilizó un molino de discos con apertura 3.0 mm (Huddinge Sweden; modelo: 3303 sin tamiz), y posteriormente se usó un molino Foss Tecator con tamiz de acero inoxidable de 0.5 μ m. La harina obtenida se dividió para hacer por un lado la determinación de humedad y por el otro el análisis de carotenos.
- 2) Se determinó la humedad con el método gravimétrico (Reynolds, 1970) basado en el cálculo de la humedad por diferencia de peso de la muestra antes y después de secarse. Para ello, se empleó un medidor dieléctrico (Steinlite). Las mediciones se realizaron utilizando un tamaño de las partículas de harina de menos de 0.5 μ m; un peso húmedo de la harina de 2 gramos y después de haberlas secado durante 1 hora a 130°C.
- 3) Inmediatamente después de la molienda, las muestras para análisis de carotenos se almacenaron a -20°C o se procedió directamente a la extracción.

La luz y el oxígeno contribuyen a la degradación de los carotenos; por lo tanto, el proceso se hace evitando la exposición de las muestras a luz blanca y disminuyendo el contacto con el oxígeno. Los reactivos y preparaciones específicas utilizados para el análisis se basaron en el manual de protocolos de laboratorio del CIMMYT (Galicia, et al., 2008).

- 1) En tubos Falcon de 15ml, previamente envueltos con papel aluminio, se pesaron 600 mg por muestra.
- 2) Se añadieron 6 ml de 0.1% BHT en etanol.
- 3) Se agitó bien.

- 4) Se incubó por 5 min. a 85 °C.
- 5) Se añadieron 120 µL 80% KOH.
- 6) Se agitó bien.
- 7) Se incubó por 10 min. a 85 °C.
- 8) Se transfirieron los tubos Falcon a hielo.
- 9) Se añadieron 3 ml de agua dionizada fría a cada tubo.
- 10) Se agregaron 3 ml de hexano, bajo la campana extractora de humos.
- 11) Se agitó bien.
- 12) Se centrifugaron las muestras a 3,000 rpm por 10 min.
- 13) Se transfirió la fase superior a un tubo Falcon nuevo. Se mantuvieron estos tubos en hielo. Inmediatamente se cerraron, evitando el contacto de la fase superior con el aire.
- 14) Se extrajo dos veces más con hexano (repetiendo los pasos 14 – 17).
- 15) Se añadieron 3 ml de agua desionizada a las tres fracciones combinadas con hexano.
- 16) Se agitó bien.
- 17) Se centrifugó a 3,000 rpm por 10 min.
- 18) Se transfirió la fase superior a un nuevo tubo Falcon, también envuelto con papel aluminio; cuidando de únicamente transferir la fase superior; sin llevar el agua.

- 19) Utilizando N₂ se secaron las muestras por 1.5 a 2 horas.
- 20) Se cerraron los tubos inmediatamente.
- 21) Se resuspendieron las muestras con 200 µL de acetonitril: metanol: cloruro de metilo (45:20:35).

La separación y cuantificación de carotenoides usando cromatografía líquida de alta definición (HPLC por sus siglas en inglés) se hizo mediante las siguientes condiciones y proceso:

Condiciones Generales:

Columna: YMC Carotenoid 3µm, 4.6 x 250 mm

Precolumna: YMC Carotenoid 5µm, 4.0 x 2.0 mm

Fase móvil: acetonitril: metanol: cloruro de metileno (75:20:5) conteniendo 0.05% trietilamina (TEA) y 0.1% de BHT.

Flujo: 1.8 ml / min

Absorbancia: 450 nm

Estándares: luteína, beta-cryptozantina, beta-caroteno, Alfa-caroteno resuspendidas en acetonitrilo: metanol: cloruro de metileno (75:20:5) conteniendo 0.05% trietilamina (TEA) y 0.1% BHT.

1. Se determinó espectroscópicamente la concentración de los estándares basadas en su coeficiente de extinción (E1%) en una máxima longitud de onda (450 nm) del carotenoide. Los coeficientes de extinción son:

b-caroteno: 2592

zeaxantina: 2348

luteína: 2550

La concentración del estándar (ng /ul) = Absorbancia x 10,000 + E1%

2. Se verificó la pureza del estándar por HPLC.
3. Se realizó la curva de calibración del estándar. Se utilizó regresión lineal para establecer la ecuación para convertir el área pico a la concentración de carotenoide.

3.3 Análisis estadístico

El análisis de varianza (ANOVA) se realizó utilizando el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) *versión 9.2*. El modelo lineal (Martínez G., 1998) utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + g_i + e_j + ge_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

μ = es el efecto común a todas las observaciones.

g_i = es el efecto del genotipo i .

e_j = es el efecto de la localidad j .

ge_{ij} = es el efecto de la interacción genotipo x ambiente.

ε_{ijk} = es el efecto del residual.

Para la comparación de medias de tratamientos se utilizó la prueba de diferencia mínima significativa (DMS) según Steel y Torrie (1980); utilizando modelos mixtos. El nivel de significancia fue $\alpha = 0.05$.

Los análisis de línea x probador se hicieron siguiendo el método descrito por Kempthorne (1957):

$$X_{ijk} = \mu + g_i + g_j + S_{ij} + \varepsilon_{ijk}, \quad i=1, 2, \dots, \text{número de machos}, \quad j=1,2,\dots, \text{número de hembras}.$$

Donde:

X_{ijk} = comportamiento del cruzamiento entre la i-ésima línea con el j-ésimo.

probador en la k-ésima repetición.

μ = media general.

g_i = efectos de aptitud combinatoria general de la i-ésima línea (macho).

g_j = efectos de la aptitud combinatoria general del j-ésimo probador (hembra).

S_{ij} = efectos de la aptitud combinatoria específica para la cruce entre la i-ésima línea (macho) y el j-ésimo probador (hembra).

i = número de líneas (machos), $i = 1,2,3, \dots, 38$.

j = número de probadores (hembras), $j = 1,2,3$.

ε_{ijk} = error experimental asociado con la ijk -ésima observación.

Para los efectos de aptitud combinatoria general de machos y hembras (g_i y g_j), así como también el efecto de la aptitud combinatoria específica para las cruces $i \times j$ (s_{ij}); se utilizó el modelo "línea x probador" descrito por Singh (1985) dentro de modelos mixtos. Los efectos se estimaron de la siguiente manera:

$$g_i = \mu_i - \mu \qquad g_j = \mu_j - \mu \qquad S_{ij} = \mu_{ij} - \mu - g_i - g_j$$

Donde:

g_i = efectos de la aptitud combinatoria general del j-ésima línea.

g_j = efectos de la aptitud combinatoria general del j-ésimo probador.

S_{ij} = efectos de la aptitud combinatoria específica para la cruce entre la i-ésima línea (machos) y el j-ésimo probador (hembras).

μ_i = media de las cruces donde interviene el progenitor i (machos).

μ_j = media de las cruces donde interviene el progenitor j (hembras).

μ = media general.

Para estimar el coeficiente de heredabilidad en sentido amplio (también conocido como repetibilidad) se hizo uso de la siguiente fórmula (Crossa *et al.*, 2003):

$$H^2 = \sigma_g^2 / (\sigma_g^2 + \sigma_{ge}^2/l + \sigma_\epsilon^2/r)$$

Dónde:

σ_g^2 = es la componente de varianza de los genotipos.

σ_{ge}^2 = es la componente de varianza de la interacción genotipo x ambiente.

σ_ϵ^2 = es el cuadrado medio del error o también conocido como residual.

l = número de localidades.

r = número de repeticiones.

El error estándar de la heredabilidad fue calculado mediante la siguiente formula:

$$\sqrt{(2 * (1 - H^2)^2 * (gle - 1) * H^2) / ((gle) * (gle - 1) * l)}$$

Dónde:

H^2 = heredabilidad.

gle = grados de libertad del error.

l = número de localidades.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Evaluación de la diversidad genética

4.1.1 Análisis de varianza (ANOVA)

Tres de los cuatro ensayos del estudio (ensayo 2A, 3A y 1B) presentaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) para concentración de ProA entre genotipos y entre machos; lo cual indica que únicamente sería de utilidad, analizar estos tres ensayos para lo que aptitud combinatoria se refiere (Cuadro 3). La fuente de variación entre localidades fue significativa ($P \leq 0.05$) en tres de los cuatro ensayos (ensayo 1A, 2A y 3A), lo cual indica que las diferencias ambientales afectaron la concentración de ProA en el grano. Para ninguno de los cuatro ensayos del estudio se presentaron diferencias significativas en la interacción entrada x localidad, lo cual indica que para ProA, los genotipos respondieron de manera similar ante los cambios en el ambiente. La varianza de efectos de aptitud combinatoria general (ACG) fue significativa ($P \leq 0.05$) en los tres ensayos que presentaron varianza significativa para ProA entre híbridos. De los seis ANOVA de ACG para ProA (tres partieron de las ACG de las hembras y tres de las ACG de los machos) tres de ellas manifestaron varianzas altamente significativas ($P \leq 0.01$) y otro generó varianza significativa ($P \leq 0.05$); lo cual indica que los efectos

aditivos fueron importantes en la determinación de la concentración de ProA (Cuadro 3). Los efectos no aditivos (varianza por ACE) fueron significativos en dos de los tres ensayos.

El ANOVA del Cuadro 4 muestra un análisis de un sub-juego de los materiales analizados en el Cuadro 3. Este es un análisis completo y balanceado de 14 líneas que se cruzaron exitosamente por los tres probadores y posteriormente autofecundados todos ellos en tres localidades. Aquí podemos observar como la ACG fue altamente significativa ($P \leq 0.001$), y la ACE no fue significativa, lo que indica que, usando un sub-juego balanceado de híbridos, los efectos aditivos mostraron ser mucho más importantes que los no-aditivos en determinar la herencia de ProA; tal y como se puede observar en la fuente de variación Híbridos (Ensayos), donde la heredabilidad fue altamente significativa ($P \leq 0.001$).

En el ANOVA para rendimiento de grano combinado a través de localidades se presentaron diferencias significativas en las fuentes de variación: entradas (genotipos), machos, localidades x entradas y localidades x machos en los cuatro ensayos. La interacción localidades x entradas indica que los genotipos (híbridos) y los progenitores macho no se comportaron de manera similar ante los cambios de ambiente, y por ende, que pudiera haber mejores materiales para unas zonas que en otras. En la interacción entre localidad x macho x hembra únicamente hubo diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en los ensayos 2-A y 1-B (Cuadro 5).

Cuadro 3. ANOVA combinado entre localidades para provitamina A.

Provitamina A	Ensayo 1A		Ensayo 2A		Ensayo 3A		Ensayo 1B	
	Grupo Heterótico A		Grupo Heterótico A		Grupo Heterótico A		Grupo Heterótico B	
FV	GL	CM	GL	CM	GL	CM	GL	CM
Loc	1	5.4 *	1	10.12 **	1	6.45 **	1	1.02
Rep (Loc)	2	7.43 **	2	6.33 *	2	9.32 **	2	0.22
Entrada	15	1.3	18	4.06 **	15	2.36 **	43	2.89 **
Hembra	2	1.2	2	0.45	2	1.59 *	2	1.85
Macho	5	1.32	8	7.33 **	6	2.72 **	15	4.93 **
Hem*Macho	8	1.22	8	1.53	6	1.65 **	26	1.63 **
Loc*Entrada	14	1.03	12	0.8	11	0.45	40	0.74
Loc*Hembra	2	0.6	2	0.62	2	1.27 *	2	1.4 *
Loc*Macho	4	1.8	4	1.42	3	0.39	13	1.16 *
Loc*Hembra*Macho	8	0.66	6	0.55	6	0.18	25	0.43
Error Total	28	1.36	21	1.26	24	1.23	77	0.98

*significativo con una probabilidad de $P \leq 0.05$; **significativo con una probabilidad de $P \leq 0.01$; FV = fuente de variación; GL = grados de libertad; CM = cuadrados medios; Loc = localidad; Rep (Loc) = repetición anidada de en localidad

Cuadro 4. ANOVA combinado completo de 14 líneas en 3 localidades para provitamina A.

Provitamina A		
FV	GL	CM
Localidades	2	21.02 **
Ensayos	3	10.11 **
Híbridos (Ensayos)	38	2.29 *
Hembras(Ensayos)	8	1.37
Machos(Ensayos)	10	5.3 **
Hembras * Machos(Ensayos)	20	1.91
Error	73	1.33

*significativo con una probabilidad de $P \leq 0.05$; **significativo con una probabilidad de $P \leq 0.01$; FV = fuente de variación; GL = grados de libertad; CM = cuadrados medios; Loc = localidad

4.1.2 Análisis de correlación entre las variables

Los caracteres con los que correlacionó la concentración de ProA fue con los carotenos zeaxantina, betacryptozantina y betacaroteno; y especialmente betacaroteno y betacryptozantina (Cuadro 6) por ser estos, los que poseen alta actividad provitamínica A (Meléndez-Martínez et al., 2004). El coeficiente de Pearson de correlación promedio entre ProA y Betacryptozantina fue de 0.77 ($P \leq 0.01$); mientras que, entre ProA y betacaroteno fue del 0.79 ($P \leq 0.01$); aclarando que únicamente se tomaron en cuenta los ensayos que mostraron diferencias estadísticamente significativas para el carácter de ProA. Asimismo, la correlación promedio entre zeaxantina y ProA fue de 0.43 ($P \leq 0.01$), en tanto que entre luteína y ProA fue significativa en dos ensayos ($r = 0.18$, $P \leq 0.05$) y $r = 0.49$, $P \leq 0.01$).

Cuadro 5. ANOVA combinado entre localidades para rendimiento.

Rendimiento	Ensayo 1A		Ensayo 2A		Ensayo 3A		Ensayo 1B	
	Grupo Heterótico A		Grupo Heterótico A		Grupo Heterótico A		Grupo Heterótico B	
FV	GL	CM	GL	CM	GL	CM	GL	CM
Loc	3	24.48	2	5.6	3	2.8	3	12.64
Bloc(Loc*Rep)	8	17.47 *	6	20.03 **	8	15.73 *	8	29.05 **
Rep(Loc)	4	10.77 *	3	10.56 *	4	7.01	4	18.2 **
Entrada	95	691.25 **	89	491.87 **	49	286.14 **	95	460.9 **
Cruzas	91	505.18 **	89	491.87 **	48	227.29 **	91	410.98 **
Hembra	2	143.23 *	2	14.55	2	22.8	2	8.53
Macho	36	239.56 **	36	196.15 **	19	153.26 **	37	163.11 **
Hemb*Macho	53	111.26	50	138.4 *	27	38.63	51	141.14 **
Testigos	3	29.88 **	3	35.29 *
Cruzas vs Testigos	1	156.2 **	1	14.62 **
Loc*Entrada	284	488.96 **	177	557.66 **	147	301.18 **	284	446.5 **
Loc*Cruzas	272	440.46 **	177	557.66 **	144	277.21 **	272	411.31 **
Loc*Hembra	6	51.62 **	4	93.99 **	6	55.91 **	6	9.41
Loc*Macho	108	196.56 **	71	195.66 *	57	135.94 **	111	219.22 **
Loc*Hembra*Macho	158	171.03	100	167.69 **	81	85.54	152	159.97 **
Loc* Testigos	9	15.79	8	20.63
Loc* Cruzas vs Testigos	3	32.71 **	3	14.56 **
Residual	357	392.68	237	224.53	188	192.36	356	283.26

*significativo con una probabilidad de $P \leq 0.05$; **significativo con una probabilidad de $P \leq 0.01$; FV = fuente de variación; GL = grados de libertad; CM = cuadrados medios; Loc = localidad; Rep (Loc) = repetición anidada de en localidad; Bloc(Loc*Rep) = bloque anidado en la interacción de localidad con repetición.

No hubo correlación significativa entre ProA y el rendimiento del grano ni con altura de planta (Cuadro 6). Este dato es importante porque implica que será posible desarrollar materiales con ambas características deseadas (alto nivel de provitamina y además con un buen rendimiento). Para dos de los tres ensayos, hubo correlaciones negativas significativas ($P \leq 0.05$) entre ProA y fecha de floración; lo cual indica que a mayor número de días que tardó la planta en llegar a su etapa reproductiva, menor fue su cantidad de ProA; lo que se podría explicar con la hipótesis, de que entre mayor tiempo de exposición a la radiación solar, menor contenido de carotenos perdura en el grano, sobre todo ProA.

Asimismo el rendimiento del grano tuvo correlación positiva de $r = 0.35$ ($P \leq 0.01$) con altura de planta, lo cual supone que entre más alta sea la planta, más biomasa tendrá y por ende mayor rendimiento (Cuadro 6).

Rendimiento de grano y días a floración expresó una correlación baja negativa de $r = 0.15$ ($P \leq 0.01$).

Cuadro 6. Análisis de correlación entre las variables fenotípicas

	Ensayo	Flo. Masc	Alt.P	Lut	Zea	B_Cry	B_Caro	Rend	ProA
ProA	1A	-0.25 *	0.25 *	0.13	0.21	0.91 **	0.89 **	0.09	1
	2A	-0.35 *	0.35 *	0.49 **	0.41 **	0.77 **	0.70 **	0.15	1
	3A	-0.36 **	0.26	0.24	0.45 **	0.76 **	0.87 **	0.09	1
	1B	0.03	-0.01	0.18 *	0.44 **	0.78 **	0.82 **	0.03	1
Rend	1A	-0.12	0.35 **	0.28 *	-0.01	-0.02	0.19	1	
	2A	-0.25 **	0.36 **	0.30	-0.07	0.03	0.10	1	
	3A	-0.23 **	0.34 **	0.35 *	0.21	0.30 *	-0.09	1	
	1B	-0.02	0.40 **	0.005	0.03	-0.05	0.10	1	

*significativo con una probabilidad de $P \leq 0.05$; **significativo con una probabilidad de $P \leq 0.01$; Flo. Masc = floración masculina; Alt. P = altura de planta; Lut = luteína; B-cry = betacriptozantina; B_caro = betacaroteno; Rend = rendimiento; ProA = provitamina A

4.1.3 Análisis de aptitud combinatoria

Ensayo 1A:

En este ensayo no se hizo análisis de aptitud combinatoria para ProA debido a que no hubo varianza significativa para este carácter; sin embargo, si se hizo el análisis de aptitud combinatoria para rendimiento. Las líneas 4 y 6, las cuales mostraron ser altamente significativas ($P \leq 0.01$), fueron las mejores y la línea 1 fue la peor en ACG y medias para rendimiento entre seis líneas. La hembra 1B tuvo la mejor ACG, mostrándose altamente significativa ($P \leq 0.01$). La cruce entre la hembra 1B y el macho 1 generó la mejor ACE aunque no mostró significancia estadística (Cuadro 7.)

Cuadro 7. ACG y ACE combinado entre localidades para rendimiento en el Ensayo 1A del grupo heterótico A.

Macho	1	2	3	4	5	6		
Hembra							Hembra Media	Hembra ACG
1B	-0.74	0.47	0.44	-0.46	0.2	-0.47	5.4	0.46
2B	-0.21	-0.44	-0.16	.	0.79	0.68	4.45	-0.49
3B	1.3	0.22	-0.25	.	-0.89	-0.15	4.94	0.005
Media Macho	4.24	4.6	4.87	6.61	5.19	5.59		
Macho ACG	-0.7	-0.33	-0.07	1.67	0.25	0.65		

Error estándar ACG hembras = 0.14; Error estándar ACG machos = 0.20; Error estándar ACE = 0.35

Ensayo 2A:

Las líneas 11 y 15, se mostraron altamente significativas ($P \leq 0.01$) y fueron las mejores, mientras que las líneas 7 y 8 las peores en ACG y en sus medias para ProA. La hembra 3B tuvo la mejor ACG y la mayor media para ProA aunque no mostró significancia estadística. La cruce entre la hembra 3B y el macho 15 tuvo la mejor aptitud combinatoria específica (ACE) para ProA (Cuadro 8) mostrando diferencia altamente significativa ($P \leq 0.01$) con respecto a las demás.

En lo referente a rendimiento de grano la línea 15 fue la mejor con diferencia altamente significativa ($P \leq 0.01$), en tanto que las líneas 12 y 14 fueron las peores (usadas como machos) para ACG y media. La hembra 2B tuvo la mejor ACG entre los tres probadores aunque no fue estadísticamente significativa. La cruce entre hembra 2B y macho 15 generó la mejor ACE mostrándose altamente significativa ($P \leq 0.01$) (Cuadro 9).

Aunque las mejores líneas para rendimiento y ProA en este ensayo no son las mismas; así se puede ver que la línea 15 fue muy buena y la 7 relativamente mala para ambos caracteres. También se puede apreciar que para el carácter de rendimiento, hay diferencias entre machos y en la forma en la que influyen en las cruces. Los machos 15 y 10 fueron los que generaron cruces con mayor rendimiento; las cinco mejores cruces para este carácter, provinieron de alguno de estos dos machos (Cuadro 5 y Cuadro 10).

En relación al carácter ProA, se puede observar que mostró altos efectos aditivos; tanto en el Cuadro 3 como en el Cuadro 10 se aprecia cómo el estimado de la ACG es

importante para esta característica pues dependiendo del parental, los resultados del híbrido se ven influenciados para ProA.

Es interesante observar que hay cruzas específicas que generan buenos resultados tanto para rendimiento como para ProA en el grano; algunas cruzas se destacaron fueron:

- Hembra 2B x macho 15, mostrándose altamente significativa ($P \leq 0.01$) para rendimiento con 8.81 ton ha^{-1} (la mejor craza para el rendimiento) y tuvo un contenido de ProA de $5.61 \mu\text{g g}^{-1}$; $1.93 \mu\text{g g}^{-1}$ menor que la craza que produjo el mayor contenido de ProA ($7.03 \mu\text{g g}^{-1}$); pero $0.94 \mu\text{g g}^{-1}$ mayor que el promedio de ProA de este ensayo.
- Hembra 3B x macho 15, diferente significativamente ($P \leq 0.01$) para ProA generó un rendimiento de 5.72 ton ha^{-1} ; 3.09 ton ha^{-1} menor que la craza que produjo el mayor rendimiento; no obstante fue la tercer craza con mejor rendimiento, con 1.22 ton ha^{-1} mayor que el promedio de rendimiento para este ensayo (Ensayo 2A); y un contenido de ProA de $7.03 \mu\text{g g}^{-1}$ (la mejor para ProA) (Cuadro 10).

Para el Ensayo 2A en particular, la línea 15 fue la que generó tanto el híbrido con mejor rendimiento, como aquel con mejor contenido de ProA. Esta línea tuvo la mejor ACG para rendimiento, y aunque no fue la mejor línea en cuanto a ACG para ProA, a partir de ella se produjeron dos de los cinco mejores híbridos para este carácter (Cuadro 10).

Cuadro 8. ACG y ACE combinado entre localidades para provitamina A en el Ensayo 2A del grupo heterótico A.

Macho	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
Hembra										Media Hembra	Hembra ACG
1B	.	-0.14	0.5	0.32	-0.16	0.14	.	0.14	-0.72	4.57	-0.14
2B	0.04	0.18	0.44	0.43	0.39	.	.	.	0.11	4.67	-0.04
3B	.	-0.1	-0.62	-0.68	0.49	.	-0.17	.	1.08	4.89	0.17
Media Macho	3.26	3.14	4.72	4.03	6.16	4.1	4.65	4.91	5.77		
Macho ACG	-1.45	-1.57	0.00	-0.68	1.44	-0.61	-0.06	0.19	1.05		

Error estándar ACG hembras = 0.08; Error estándar ACG machos = 0.21; Error estándar ACE = 0.30

49

Cuadro 9. ACG y ACE, combinado entre localidades para rendimiento en el Ensayo 2A del grupo heterótico A.

Macho	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
Hembra										Media Hembra	Hembra ACG
1B	.	0.52	-0.54	-0.47	1.35	0.35		0.35	-0.76	4.31	0.35
2B	-0.4	-0.38	-0.27	0.95	-0.36	.		.	2.77	5.06	0.40
3B	.	-0.14	0.37	0.14	-0.72	.	-0.01	.	0.08	4.67	0.01
Media Macho	3.63	4.7	4.54	5.04	4.41	2.83	3.72	3.32	5.64		
Macho ACG	-1.03	0.04	-0.12	0.38	-0.25	-1.83	-0.94	-1.33	0.98		

Error estándar ACG hembras = 0.21; Error estándar ACG machos = 0.12; Error estándar ACE = 0.20

Cuadro 10. Relación de los mejores materiales para rendimiento y para provitamina A del Ensayo 2A.

Orden en ProA	Orden en Rend.	No. Híbrido	Hembra	Macho	Rend. ton ha ⁻¹	Pro A µg g ⁻¹	B-caroteno µg g ⁻¹	B-cryptozantina µg g ⁻¹	Zeaxantina µg g ⁻¹
5	1	34	2 - B	15	8.81	5.61	3.16	4.88	3.16
11	2	30	2 - B	10	6.4	4.43	2.09	4.66	2.09
1	3	43	3 - B	15	5.73	7.03	5.06	4.79	5.06
3	4	22	1 - B	11	5.4	5.86	3.71	5.04	3.71
15	5	38	3 - B	10	5.19	3.5	2.05	3.2	2.04
2	15	39	3 - B	11	3.7	6.83	4.4	5.51	4.39
4	12	31	2 - B	11	4.45	5.73	3.46	5.09	3.45

Promedio de rendimiento = 4.5 ton ha⁻¹; promedio de ProA = 4.67 µg g⁻¹; promedio de betacaroteno = 2.67 µg g⁻¹; Promedio de betacryptozantina = 4.3 µg g⁻¹; Promedio de zeaxantina = 2.66 µg g⁻¹

Ensayo 3A:

La línea 16 fue la mejor, y la línea 17 fue la peor en ACG y medias para ProA entre las siete líneas usadas como machos. La hembra 2B tuvo la mejor ACG y la mayor media para ProA entre las tres hembras. La cruce entre la hembra 3B y el macho 22 tuvo la mejor ACE para ProA ($P \leq 0.01$) (Cuadro 11).

En cuanto a rendimiento de grano, la línea 20 fue la mejor y la línea 17 fue la peor para ACG y media; la hembra 1A tuvo la mejor ACG entre los tres probadores y la cruce entre la hembra 2B y el macho 18 generó la mejor ACE para rendimiento (Cuadro 12) aunque no fue estadísticamente significativa.

Aunque las mejores líneas para rendimiento y ProA en este ensayo no son las mismas se puede ver que la líneas 16 y 21 fueron muy buenas y la 18 relativamente mala. (Cuadros 3 y 13).

En relación con el rendimiento, los 5 mejores híbridos provinieron de 5 diferentes líneas o machos: 22, 16, 21, 20 y 18 (Cuadros 5 y 13).

Al igual que en el Ensayo 2A, hubo cruces específicas que generaron buenos resultados tanto para rendimiento, como para ProA en el grano; la cruce más promisorio para ambos caracteres en el Ensayo 3A fue:

- Hembra 1B x macho 16, aunque no fue estadísticamente significativa para ninguno de los dos caracteres, esta cruce fue la segunda mejor, tanto para ProA, como para el rendimiento; su rendimiento fue de 5.01 ton ha^{-1} ; 0.39 ton ha^{-1} menor que la de mayor rendimiento para este ensayo; pero, 0.71 ton ha^{-1} mayor que la media. Asimismo, en cuanto a ProA, dicho híbrido produjo $5.49 \mu\text{g g}^{-1}$;

0.01 $\mu\text{g g}^{-1}$ menor que la mejor cruza para ProA; y 0.79 $\mu\text{g g}^{-1}$ mayor que el promedio (Cuadro 13).

Ensayo 1B:

Las línea 23 fue la mejor, y la línea 26 fue la peor en ACG y medias para ProA entre 16 líneas usadas como machos. La hembra 2A tuvo la mejor ACG y la mayor media para ProA entre las tres hembras, aunque no hubo diferencias estadísticamente significativas. La cruza entre la hembra 1A y el macho 27 tuvo la mejor ACE para ProA ($P \leq 0.01$) (Cuadros 14 y 15).

Para el caso del rendimiento de grano la línea 28 fue la mejor y las líneas 30 y 34 fueron las peores (usadas como machos) para ACG y media. La hembra 1A tuvo la mejor ACG entre los tres probadores aunque sin diferencias estadísticamente significativas. La cruza entre la hembra 1A y el macho 33 genero la mejor ACE (Cuadros 16 y 17).

Las mejores líneas para rendimiento y ProA en este ensayo no fueron las mismas. Las cinco mejores cruzas se obtuvieron a partir de cinco diferentes machos (Cuadro 18).

En lo que se refiere al rendimiento, tampoco se ve mucha influencia de machos específicos para obtener los mejores híbridos; sin embargo, la línea 28 usada como macho generó dos de los mejores cinco híbridos para este carácter.

Hubo cruzas específicas que generaron buenos resultados tanto para el rendimiento como para ProA. La cruza más promisoría para ambos caracteres fue:

Cuadro 11. ACG y ACE combinado entre localidades para provitamina A en el Ensayo 3A del grupo heterótico A.

Macho	16	17	18	19	20	21	22		
Hembra								Media Hembra	Hembra ACG
1B	0.52	0.34	0.21	.	.	0.19	-0.99	4.32	-0.34
2B	-0.12	.	-0.23	-0.31	.	0.02	0.06	4.98	0.31
3B	-0.53	.	-0.1	.	-0.11	-0.34	0.83	4.78	0.11
Media Macho	5.3	2.88	4.61	4.85	4.62	5.12	3.77		
Macho ACG	0.64	-1.77	-0.04	0.18	-0.04	0.45	-0.88		

Error estándar ACG hembras = 0.10; Error estándar ACG machos = 0.20; Error estándar ACE = 0.26

53

Cuadro 12. ACG y ACE, combinado entre localidades para rendimiento en el Ensayo 3A del grupo heterótico A.

Macho	16	17	18	19	20	21	22		
Hembra								Hembra Media	Hembra ACG
1B	-0.05	-0.56	0.02	.	.	0.12	0.24	4.87	0.56
2B	0.03	.	0.29	0.31	.	-0.00	-0.39	4.00	-0.31
3B	-0.14	.	-0.2	.	0.22	-0.00	0.11	4.09	-0.22
Media Macho	4.51	2.77	3.96	4.05	4.85	4.24	4.6		
Macho ACG	0.2	-1.54	-0.35	-0.25	0.54	-0.07	0.29		

Error estándar ACG hembras = 0.17; Error estándar ACG machos = 0.13; Error estándar ACE = 0.25

Cuadro 13. Relación entre los mejores materiales para rendimiento y para provitamina A del Ensayo 3A.

Orden en ProA	Orden en Rend.	No. Híbrido	Hembra	Macho	Rend. ton ha ⁻¹	Pro A µg g ⁻¹	B-caroteno µg g ⁻¹	B-cryptozantina µg g ⁻¹	Zeaxantina µg g ⁻¹
15	1	50	1-B	22	5.4	2.44	0.71	3.45	0.71
2	2	44	1 -B	16	5.01	5.49	2.75	5.47	2.75
4	3	49	1-B	21	4.91	4.98	2.88	4.18	2.88
11	4	61	3-B	20	4.85	4.62	2.29	4.66	2.29
12	5	46	1-B	18	4.54	4.48	1.93	5.38	1.93
1	7	51	2-B	16	4.24	5.5	2.37	6.26	2.37
3	12	55	2-B	21	3.92	5.47	3.2	4.53	3.2
5	10	62	3-B	21	4.01	4.89	2.72	4.34	2.72

Promedio de rendimiento= 4.31 ton ha⁻¹; promedio de ProA = 4.7 µg g⁻¹; promedio de betacaroteno = 2.88 µg g⁻¹; promedio de betacryptozantina = 4.83 µg g⁻¹; promedio de zeaxantina = 2.88 µg g⁻¹

- Entre hembra 1A x macho 29, mostrándose con diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) para ambos caracteres, siendo la tercera mejor para ProA con $5.43 \mu\text{g g}^{-1}$; $0.63 \mu\text{g g}^{-1}$ menor que la mejor para este carácter; y también la quinta mejor para rendimiento con 5.42 ton ha^{-1} ; 1.4 ton ha^{-1} menor que la mejor para esta variable (Cuadro 18).

Los análisis de aptitud combinatoria en los cuatro ensayos del estudio, mostraron que, debido a la falta de correlación entre las variables de rendimiento y ProA, realmente no se encontró un mismo comportamiento o patrón entre dichas variables. Es decir, en cada uno de los ensayos del estudio, una determinada línea fue la más sobresaliente para ProA y otra diferente para rendimiento; esto en términos de la ACG; lo mismo sucedió para la ACE; en cada ensayo hubo cruza específicas que fueron las más sobresalientes para cada una de las variables en forma independiente (ProA y rendimiento) y en ningún caso se encontró que fueron las mismas para ProA que para el rendimiento. No obstante, se encontraron ciertas cruza específicas, en cada uno de los distintos ensayos del estudio, en las que, aunque no fueron las más sobresalientes para cada uno de los caracteres evaluados, si contaron con buenos niveles de cada una de estas características. Por tal motivo, es altamente recomendable el utilizar cruza específicas que puedan brindar buenos niveles de ambos caracteres (Cuadros 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 y 16, 17 y 18).

Cuadro 14. ACG y ACE combinado entre localidades para provitamina A en el Ensayo 1B del grupo heterótico B.

Macho	23	24	25	26	27	28	29	30		
									Media Hembra	Hembra ACG
Hembra										
1A	-0.05	0	-0.52	.	1.65	-0.05	0.92	-0.15	4.01	0.07
2A	-0.69	-0.71	0.5	-0.12	-0.13	0.47	-0.78	-0.15	4.06	0.12
3A	0.88	0.67	-0.09	.	-1.09	-0.17	-0.07	0.3	3.73	-0.2
Media Macho	5.08	4.64	4.6	3.02	3.47	2.65	4.42	3.33		
Macho ACG	1.14	0.7	0.66	-0.9	-0.46	-1.28	0.48	-0.6		

Error estándar ACG hembras =0.08; Error estándar ACG machos = 0.20; Error estándar ACE =0.27

56

Cuadro 15. ACG y ACE combinado entre localidades para provitamina A en el Ensayo 1B del grupo heterótico B.

Macho	31	32	33	34	35	36	37	38		
									Media Hembra	Hembra ACG
Hembra										
1A	-0.27	-0.38	-0.52	-0.03	0.25	0.84	.	-0.58	4.01	0.07
2A	0.18	0.2	0.52	0.16	0	0.33	-0.12	1.22	4.06	0.12
3A	-0.11	0.11	0	-0.18	-0.1	0.6	.	-0.02	3.73	-0.2
Media Macho	3.74	3.3	3.9	3.43	3.48	4.26	3.55	4.66		
Macho ACG	-0.19	-0.63	-0.02	-0.5	-0.5	0.32	-0.38	0.72		

Error estándar ACG hembras =0.08; error estándar ACG machos = 0.20; error estándar ACE =0.27

Cuadro 16. ACG y ACE, combinado entre localidades para rendimiento en el Ensayo 1B del grupo heterótico B.

Macho	23	24	25	26	27	28	29	30		
Hembra									Media Hembra	ACG Hembra
1A	-0.92	-0.96	0.34	.	0.05	0.08	0.76	0.02	5.17	0.09
2A	0.58	0.63	0.46	0.04	-0.56	0.06	0.23	-0.68	5.03	-0.04
3A	0.4	0.54	-0.7	.	0.39	-0.11	-0.79	0.66	5.03	-0.04
Media Macho	5.18	5.41	5.24	6.83	4.84	6.11	5.23	4.31		
ACG Macho	-0.21	0.33	0.16	1.75	-0.24	1.03	0.15	-0.77		

Error estándar ACG hembras = 0.07; Error estándar ACG machos = 0.20; Error estándar ACE = 0.25

57

Cuadro 17. ACG y ACE, combinado entre localidades para rendimiento en el Ensayo 1B del grupo heterótico B.

Macho	31	32	33	34	35	36	37	38		
Hembra									Media Hembra	ACG Hembra
1A	0.23	-0.05	0.92	-0.26	0.17	0.17	.	-0.05	5.17	0.09
2A	-0.4	0.27	-0.36	-0.14	-0.3	0.05	0.04	0.21	5.03	-0.04
3A	0.45	-0.22	-0.57	0.4	0.19	-0.31	.	-0.13	5.03	-0.04
Media Macho	4.84	5.15	5.24	4.48	4.76	5.32	5.67	5.03		
ACG Macho	-0.24	0.07	0.16	-0.6	-0.32	0.24	0.59	-0.04		

Error estándar ACG hembras = 0.07; Error estándar ACG machos = 0.20; Error estándar ACE = 0.25

Cuadro 18. Relación entre los mejores materiales para rendimiento y para provitamina A del Ensayo 1B.

Orden en ProA	Orden en Rend.	No. Híbrido	Hembra	Macho	Rend. ton ha ⁻¹	Pro A µg g ⁻¹	B-caroteno µg g ⁻¹	B-cryptozantina µg g ⁻¹	Zeaxantina µg g ⁻¹
39	1	83	2 - A	26	6.83	3.02	0.97	4.11	0.97
42	2	69	1 - A	28	6.28	2.68	0.93	3.5	1.61
31	3	74	1 - A	33	6.26	3.46	1.45	4.03	1.45
36	4	85	2 - A	28	6.13	3.26	1.61	3.3	1.61
3	5	70	1 - A	29	5.43	5.43	2.54	5.78	2.54
1	19	95	2 - A	38	5.2	6.01	3.63	4.76	3.63
2	18	96	3 - A	23	5.22	5.76	2.89	5.74	2.89
4	11	82	2 - A	25	5.66	5.23	2.01	5.66	2.4
5	25	68	1 - A	27	4.98	3.46	2.09	6.24	2.08

Promedio de rendimiento = 5.08 ton ha⁻¹; promedio de ProA = 3.94 µg g⁻¹; promedio de betacaroteno = 1.85 µg g⁻¹; Promedio de betacryptozantina = 4.17 µg g⁻¹; promedio de zeaxantina = 1.85 µg g⁻¹

4.1.4 Heredabilidad de los caracteres que se evaluaron en el estudio

La heredabilidad promedio de concentración de ProA fue de aproximadamente 55% en los tres ensayos donde hubo varianza significativa para este carácter (Cuadro 19).

La heredabilidad de rendimiento fue diferente en cada uno de los tres ensayos del grupo heterótico A, variando desde 36% (Ensayo 2A) hasta 72% (en el Ensayo 1A). Estos valores de heredabilidad pueden considerarse entre intermedios y altos, en comparación con valores publicados por Hallauer (1987b) para dicho carácter (rendimiento) pues reporta heredabilidades menores al 30%, lo cual es consistente con la conclusión anterior en cuanto a que los efectos aditivos son más importantes que los no-aditivos (los cuales también desempeñan un papel significativo) para este carácter.

La heredabilidad en ProA no fue mucho mayor que rendimiento de grano, esto es probablemente debido a la relativamente poca varianza genética para ProA entre los materiales estudiados. La ruta biosintética de los carotenos es muy conocida (DellaPenna y Pogson, 2006) y la ProA es sin duda un carácter menos complejo, en cuanto a número de genes que lo influyen, que el rendimiento de grano. Aunque hay pocas publicaciones con datos sobre la heredabilidad de ProA en poblaciones de maíz, es de esperarse que ésta sea mayor que la de rendimiento de grano, el cual es un carácter muy complejo y altamente influenciado por efectos genéticos no-aditivos, y ambientales (Egesel *et al.*, 2003b; Menkir y Maziya-Dixon, 2004; Gruneberg *et al.*, 2005). (Cuadro 19).

Cuadro 19. Heredabilidades para los caracteres provitamina A y rendimiento.

Ensayos	ProA		Rendimiento	
	H2	Error estándar	H2	Error estándar
1A	0.10	0.07	0.73	0.02
2A	0.58	0.07	0.36	0.04
3A	0.57	0.08	0.58	0.04
1B	0.53	0.05	0.60	0.03

5. CONCLUSIONES

Hubo diferencias estadísticas significativas entre líneas en el contenido de provitamina A; y por lo tanto, algunas líneas fueron las responsables de generar los mejores híbridos para este carácter. La Aptitud Combinatoria General para provitamina A debe ser tomada en consideración, ya que las líneas con valores altos en estos efectos de ACG fueron las que generaron los mejores híbridos. El carácter provitamina A mostró alta heredabilidad, con un promedio de 55%. El carácter rendimiento de grano mostró una heredabilidad del 56%. Hubo significancia estadística para los efectos de interacción Genotipo x Ambiente. Se identificaron líneas y probadores que generaron cruza específicas (Aptitud Combinatoria Específica) de comportamiento estable para las variables evaluadas.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Alabi S.O., Obliana A.B., Nwasike C.C. 1987. Gene action and combining ability for quantitative characters in upland cotton. *Sumaru Agric. Res.* 5 (1-2):59-64.
- Alexander R.J. 1987. Corn dry milling: process, products, and applications. In: Watson SA, Ramstad PE, editors. *Corn: chemistry and technology*. St. Paul, Minn.: Am. Assoc. Cereal Chem. p. 351-76.
- Alpeter F., Baisakh N., Beachy R., Bock R., Capell T., Christou P., Daniell H., Datta K., Datta S., Dix P.J., Fauguet C., Huang N., Kohli A., Moolbroek H., Nicholson L., Nguyen T.T., Nugent G., Raemakers K., Romano A., Somers D.A., Stoger E., Taylor N., Visser R. 2005. Particle bombardment and the genetic enhancement of crops: myths and realities. *Mol. Breed.* 15:305-327.
- Baker R.J. 1969. Genotype x environment interactions in yield of wheat. *Can. J. Plant Science* 49:743-751.
- Banziger M., Lafitte H.R. 1997. Breeding tropical maize for low N environments. II. The values of secondary traits for improving selection gains under low N. *Crop Science* 37:1110-1117.
- Barata C., Carena M.J. 2006. Classification of North Dakota maize inbred lines into heterotic groups based on molecular and testcross data. *Euphytica* 151:339-349.
- Beaton G.H., Marotell R., Aronsank K. J., Edmonstan B., Ross A.C., Harvey B., McCabe G. 1993. Effectiveness of vitamin A supplementation in the control of young child morbidity and mortality in developing countries. *Canadian International Agency, Dic.* 1993. 120 p tab. (Nutrition Policy Paper, 13).
- Bjarnason and Vasal S.K. 1992. Heterosis and combining ability of CIMMYT's tropical late white maize germplasm. *Maydica* 37:217-223.
- Blum A. 1979. *Plant breeding for Stress Environments*. CRC Press, Boca Raton. FL.

- Bohn L., Meyer A.S., Rasmussen S.K., 2008. Phytate: impact on environment and human nutrition. A challenge for molecular breeding. *J. Zhejiang Univ. Soci. B.* 9:165-91
- Bouis, H.E. 2003. Micronutrient fortification of plants through plant breeding: Can it improve nutrition in man at low cost? *Proc. Nutr. Soc.* 62:403-411.
- Bouis H. E. and Welch R. 2010. Biofortification: A sustainable agricultural strategy for reducing micronutrient malnutrition in the global south. *Crop Science* 50(2): S-20-S32.
- Boyer C.D., Shannon J.C. 1983. The use of endosperm genes for sweet corn improvement In: Janick J., editor. *Plant breeding reviews*. Vol.1. Westport, Conn.: AVI Publishing. p. 139-161.
- Brancourt-Humel M., and Lecomte C. 2003. Effect of environmental variates on genotype x environment interaction of winter wheat: A comparison of biadditive factorial regression to AMMI. *Crop Science* 43:608-617.
- Brenna O.V., Berardo N. 2004. Application of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to the evaluation of carotenoids content in maize. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:5577-5582.
- Bressani, R. 1990. Protein quality of high lysine maize for humans. *Cereal Foods World* 36: 806-811.
- Burge R.M., Duensing W.J. 1989. Processing and dietary fiber ingredient applications of corn bran. *Cereal Foods World* 34:535-538.
- Burgoon K.G., Hansen J.A., Kanabe D.A., Bockholt A.J. 1992. Nutritional value of quality protein maize for starter and finisher swine. *Journal of Animal Sciences* 86:1533-1543.

- Carena M.J. 2005 a. Maize commercial hybrids compared to improved population hybrids for grain yield and agronomic performance. *Euphytica* 141:201-208.
- Carre, B. 2004. Causes of variation in digestibility of starch among feedstuff. *World's Poult. Sci. J.* 60: 76-89.
- Carrera Morales M. 2005. *Puntuario de Agricultura. Mundi-Prensa.* pp. 940.
- CATIE. 1990. *Guía para el manejo integrado de plagas de maíz. Turrialba (Costa Rica) CATIE* pp. 88.
- Ceccarelli S., Grandos S., Hamblin J. 1992. Relationship between barley grain yield measured in low and high yielding environments. *Euphytica* 64(1-2):49-58.
- Ceccarelli S., Grando S., and Booth R.H. 2006. International breeding programmes and resources-poor farmers: Crop improvement in difficult environments. Available at: <http://www.icarda.cgiar.org/oldsite/participatory/PDF/Papers/1%20FORMAL.pdf>.
- Comstock R.E., Robinson H.F., Harvey P.H. 1949. A breeding procedure designed to make maximum use of both general and specific combining ability. *J. Am. Soc. Agron.* 41:360-367.
- Comstock R.E., Robinson H.F. 1952. Estimation of average dominance of genes. *Book Heterosis.* pp. 494-516.
- Comstock R.E., and Moll R.H. 1963. Genotype-environment interactions p. 164-196. In: W.D. Hanson and H.F. Robinson (ed.) *Statistical genetics and plant breeding.* National Academy of Sciences-National Research Council Publ. 982. NAS-NRC, Washington, DC.
- Cooper M., and Hammer G.L. (ed.) 1996. *Plant adaptation and crop improvement.* CAB International, Wallingford, UK, ICRISTAT, Patancheru, India, and IRRI, Manila, Philippines.

- Crossa J., Hernández M., Bretting P., Eberhart S.A. 1993. Statistical genetic considerations for maintaining germplasm collections. *Theoretical Applied Genetics*. 86(6): 673-678.
- DellaPenna D., Pogson B.J. 2006. Vitamin synthesis in plants: tocopherols and carotenoids. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57:711-738.
- Desoier N.W. 1994. Elementos de tecnología de alimentos. Compañía editorial S.A. de C.V. México p. 112-143.
- Doswell, CR., R. I. Paliwal, and P. P. Cantrell. 1996. *Maize in the third world*. Westview Press, Boulder, CO.
- Earle F.R., Curtis J.J., Hubbard J.E. 1946. Composition of the component parts of the corn kernel. *Cereal Chem.* 23:504-511.
- Ebdon J.S., and Gauch H.G. Jr. 2002. Additive main effect and multiplicative interaction analysis of national turfgrass performance trials: I. Interpretation of genotype x environment interaction. *Crop Science* 42:489-496.
- Egesel C.O., Wong RJ, Rocherford TR. 2003a. Combining ability of maize hybrids for carotenoids and tocopherols. *Crop Science* 43:818-823.
- Egesel, C.O., J.C. Wong, R. J. Lambert, and T.R. Rocheford. 2003b. Combining ability of maize inbreds for carotenoids and tocopherols. *Crop Science* 43:818-823.
- Epinate-Le Signor C.S, Douse J., Lorgeou J.B., Denis R., Bonhomme, Carlo P., and Charcosset A. 2001. Interpretation of genotype x environment interaction for early maize hybrids over 12 years. *Crop Science* 41: 663-669.
- Falconer D.S. 1989. *Introduction to Quantitative Genetics*. Oliver & Boyd, London 3th Edition. SAS Institute (1999). *SAS language Guide for personal computers* (release 8.0 edition). SAS Inst., Cary.

Falconer D.S., Mackay T.F.C. 1996. Introduction to Quantitative Genetics. 4th Edition. Longman.

FAO. Food and Agricultural Organization of the United Nations. 1992. White maize: a traditional food grain in developing countries. Food and Agriculture Organization of the United Nations and the International Maize and Wheat Improvement Center. Available from: <http://www.fao.org/docrep/W2698E/W2698E00htm>. Accessed Sept 2009.

FAO. Food and Agricultural Organization of the United Nations. 2009. Grassland species profiles: *zea mays* L. Available from: <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/Gbase/DATA/Pf000342.htm>. Accessed Sept 2009.

FAOSTAT. 2006. FAOSTAT data 2006. FAO, Rome.

Fish W., Reynolds J., Tanfan C. 1970. Gel Chromatography of proteins in denaturing solvents comparison between sodium dodecyl sulfate and guanidine hydrochloride as denaturants. The Journal of Biological Chemistry 21:7163-7171.

Flores G., Abreu M., Olivar M., Kastner B. 1998. Access barriers to health care for latino children. Arch. Pediatr. Adolesc. Med. 152 (11): 1119-1125.

Galicia L., Nurit E., Rosales A., Palacios N. 2008. Laboratory Protocols 2008. CIMMYT Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. pp. 26-27.

Glenn K.C. 2007. Nutritional and safety assessments of foods and feeds nutritionally improved through biotechnology: lysine maize as a case of study. JAOC Int. 90: 1470-9.

Graham, R.D., and R.M. Welch. 1996. Breeding for staple-food crops with high micronutrient density: Agricultural strategies for micronutrient. Working paper No.3. 1996. IFPRI. Washington, D.C.

- Graham R.D., Welch R.M., Bouis H.E. 2001. Addressing micronutrient malnutrition through enhancing the nutritional quality of staple foods: Principles, perspectives and knowledge gaps. 2001. *Adv. Agron.* 70:77-142.
- Griffing B. 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. August. *J. Biol. Science* 9:463-493.
- Grunberg, W.J., K. Manrique, D. Zhang, and M. Hermann. 2005. Genotype x environment interactions for a diverse set of sweetpotato clones evaluated across varying ecogeographic conditions in Peru. *Crop Science* 45:2160-2171.
- Hallauer, AR. 1987b. Compendium of recurrent selection methods and their applications. *Crit. Rev. Plant Science* 3:1-33.
- Hallauer, AR. And J.B. Miranda Fo. 1988. Quantitative genetics in maize breeding. 2nd ed. Iowa State University Press, Ames, IA.
- Harvest Plus. 2006. Breeding crops for better nutrition. Washington, D.C., USA.
- Harvest Plus. 2008. Micronutrient malnutrition. Vitamin A. Available at: <http://www.harvestplus.org/content/vitamin>. Accessed 12 August 2008.
- Harvest Plus. 2009. Provitamin A maize for Zambia. Available from: <http://www.harvestplus.org/content/provitamin-maize-zambia>. Accessed Oct 2009.
- Hinkelmann K., Kempthorne O. 2011. Design and analysis of experiments. Wiley's series. Volume 2. Advanced Experimental Designs.
- Hotz C., McClafferty B., From harvest to health: Challenges for developing biofortified staple foods and determining their impacts on micronutrient status. 2007. *Food Nutr. Bull.* 28:S271-S279.

- Howe JA, Tanumihardjo SA. 2006. Carotenoid biofortified maize maintains adequate vitamin A status in Mongolian gerbils J Nutr 136:2562-2567.
- Hussein A., Odumeru J.A. 2000. Effects of processing and packing on vitamin C and B-carotene content of ready-to-use (RTU) vegetables. Food Research International 33:131-136.
- Inglett G.E. 1970b. Kernel structure, composition, and quality. In: Inglett G.E., editor. Corn: culture, processing, products, Westport, Conn.: Avi. Publishing. p. 123-137.
- International Grains Council. 2011. World market maize. <http://www.igc.int/en/grainsupdate/sd.aspx?crop=Maize> from: May 2012.
- Islam S.N. 2004. Survey of carotenoid variation and quantitative trait loci mapping for carotenoid and tocopherol variation in maize. M.Sc. Thesis, University of Illinois, Urbana-Champaign, USA.
- Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. 2001. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington, D.C.: National Academy Press. p. 65-126.
- Jalal F., Nesheim M.C., Agus Z., Sonjar D., Habicht J.P. 1998. Serum retinol concentrations in children are affected by food sources of betacarotene, fat intake and anthelminthic drug treatment. The American Society of Clinical Nutrition 68:623- 629.
- Jayarajan P., Reddy V., Mohanram M. 1980. Effect of dietary fat an absorption of β -carotene from green leafy vegetables in children. Indian Journal of Medical Research 71:53-56.
- Kang M.S. 1988. A rank-sum method for selecting high yielding, stable corn genotypes. Cereal Res. Commun. 16:113-115.

- Kang H.J. et al. 2004. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem cells mobilized with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC all randomized clinical trial. *The Lancet* 363: 751-756.
- Kempthorne, O, and R.N. Curnow. 1957. The partial diallel cross. *Biometrics* 17:229-250.
- Kiesselbach T.A. 1949. The structure and reproduction of corn. Lincoln, Nebr.: Nebraska Agric. Exp. Stn. Res. Bull. p 161.
- Kurilich A.C., J.A. Juvick, 1999. Quantification of carotenoid and tocopherol antioxidants in *Zea mays* J. *Agric. Food Chem.* 47:1948-1955.
- Lamo J., Tongoona P., Okuri D., Derera G. 2007. Breeding drought tolerance in grain threshability in upland rice in Uganda: selection of parents from interspecific and intraspecific lines. *African Crop Science Conference Proceedings* 8:1885-1891.
- Li S., Nugoroho A., Rocheford T., White W.S. 2010. Vitamin A equivalence of the β -carotene in β -carotene biofortified maize porridge consumed by women. *Am. J. Clin. Nutr.* 92:1105-1112.
- Llanos C. 1984. El maíz. Su cultivo y aprovechamiento. Mundi-Prensa. Madrid. pp. 318
- Lu'quez J.E., Aguirrezábal L.A.N., Agüero M.E., and Pereyra V.R. 2002. Stability and adaptability of cultivars in non-balanced yield trials: Comparison of methods for selecting high oleic sunflower hybrids for grain yield and quality. *J. Agron. Crop Science* 188:225.
- Lutz W., Sanderson W., Scherbov S. 2001. The end of world population growth. *Nature* 412:543-545.

- Machida L., Derera J., Pangirayi T. and MacRobert J. 2010. Combining ability and reciprocal cross effects of elite quality protein maize inbred lines in subtropical environments. *Crop Science* 50(5): 1708-1717.
- Magari R., Kang M.S. 1993. Genotype selection via new yield stability in maize yield trials. *Euphytica* 70:105-111.
- Maida J.M., Mathers K., Alley C.L. 2008. Pediatric ophthalmology in the developing world. *Current Opinion in Ophthalmology* 19(5): 403-408.
- Mastache L.A.; Martínez G.A and Castillo M.A. 1998. The best linear predictors (BLUP) for partial diallel experiments with maternal effects. *Revista Fitotecnia Mexicana* 21(2):171-184.
- Matus-Cádiz M.A., Hucl P., Perron C.E, and Tyler R.T. 2003. Genotype x environment interactions for grain color in hard white spring wheat. *Crop Science* 43:219-226.
- Melani M. D. and Carena M. J. 2005. Alternative maize heterotic patterns for the northern corn belt. *Crop Science* 45: 2186-2194.
- Meléndez M. A. J., Vicario I. M., Heredia F. J. 2004. Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. *Archivos Latinoamericanos de nutrición*.
- Menkir A., B. Maziya-Dixon. 2004. Influence of genotype and environment on b-carotene content of tropical yellow-endosperm maize genotypes. *Maydica* 49 (2004): 313-318.
- Mertz, E.T., L.S. Bates, and O.E. Nelson. 1964. Mutant genes that change protein composition and increase lysine content of maize endosperm. *Science* 145:279-280.
- Mertz E.T. 1970. Nutritive value of corn and its products. In: Inglett G.E., editor. *Corn: culture, processing, products*. Westport, Conn.: Avi. Publishing. p. 350-359.

- Miller D.F. 1958. Composition of cereal grains and forages. Washington, D.C.: National Research Council Publication. 585 p.
- Miranda F. 1985. Breeding methodologies for tropical maize. In Breandolini A., Salamini F. (ed). Breeding strategies for maize production improvement in the tropics, Firenze, FAO: Instituto Agronómico per' l Oltmare.
- Muzhingi T., Gadaga T.H., Siwela A.H., Grusak M.A., Russell R.M., and Tang G. 2011. Yellow maize with high b-carotene is an effective source of vitamin A in healthy Zimbabwean men. *Am. J. Clin. Nutr.* 94:510-519.
- Narro L., Pandey S., Crossa J., de Leon C. 2003. Using line x Tester interaction for the formation of yellow maize synthetics tolerante to acid soils. *Crop Science (United States)* 43(5):1718-1728.
- Nuss E. T. and Tanumihardjo S. A. 2010. Maize : A paramount staple crop in the context of global nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Volume 9:* 417-435.
- Ortiz-Monasterio J.L. et al. 2007. Enhancing the mineral and vitamin content of wheat and maize through plant breeding. *Journal of Cereal Science* 46: 293-307.
- Patterson H.D., Williams E.R and Hunter E.A. 1978. Block designs for variety trials. *The Journal of Agricultural Science* 90:395-400.
- Pederson D.G., Rathjen A.J. 1981. Choosing trial sites to maximize selection responses for grain yield in spring wheat. *Australian Journal of Agricultural Research.*
- Pfeiffer Wolfgang H. and McClafferty Bonnie. 2007. Harvest Plus: Breeding crops for better nutrition. *Crop Science* 47: 88-105.

- Pixley, K.V., and M. Bjarnason. 1993. Combining ability for yield and protein quality among modified-endosperm opaque-2 tropical maize inbreds. *Crop Science* 33: 1229-1234.
- Pixley K., Palacios N., Babu R., Mutale R., Surlles R. and Simpungwe E. 2012. Unpublished data.
- Quackenbush F.W., J.G. Firch, A.M. Brunson, L.R. House. 1966. Carotenoid, oil, and tocopherol content of corn inbreds. *Cereal Chem* 40:251-259.
- Rahman A., Wong K., Jane J., Mayers A. 1998. Characterization of SUI isomyulase, a determinant of storage starch structure in maize. *Plant Physiology* 117(2):2425-2435.
- Reynolds M.P., Mujeeb-Kazi M. 2005. Prospects for utilizing plant adaptive mechanisms to improve wheat and other crops in drought and salinity-prone environments. *Annals of Applied Biology* 146: 239- 259.
- Rice A.L., West Jr. K.P., Black , R.E. 2004. Vitamin A deficiency. In: Ezzati M., Lopez A.D., Rodgers A., Murray C.J.L. (Eds.). *Comparative Quantification of Health Risks: Global and Regional Burden of Disease Attribution to Selected Major Risk Factors*, vol, I. World Health Organization Geneva.
- Robert N. 2002. Comparison of stability statistics for yield and quality traits in bread wheat. *Euphytica* 128:333-341.
- Rojas B.A., Sprague G.F. 1952. A comparison of variance components in corn yield. III. General and specific combining ability and their interaction with location and years. *Agron J.* 44:462-466.
- Rooney L., Serna-Saldivar S. 1987. Food uses of whole corn and dry-milled fractions. In: Watson S., Ramstad P. (Eds.) *Corn, chemistry and technology*. American Association of Cereal Chemists Inc., Minnesota. pp. 399-430.

- Sabaghnia N.H., Dehghani and Sabaghpour S.H. 2006. Nonparametric methods for interpreting genotype x environment interaction of lentil genotypes. *Crop Science* 46:1100-1106.
- Shankar A., Genton B., Semba R., Baisor M., Paino J., Tomja S., Adiguma T., Lee Wu M.S. 1999. Effects of vitamin A supplementation on morbidity to *Plasmodium falciparum* in young children in Papua New Guinea: a randomized trial. *The Lancet* 354: 204- 209.
- Singh N., Shepherd W. 1985. The structure and genetic control of a new class of disulphide-linked proteins in wheat endosperm. *Theoretical and Applied Genetics* 7(1):79-92.
- Sprague, G.F. and L.A. Tatum. 1942. General vs. specific combining ability in single crosses of corn. *J. Am. Soc. Agron.* 34:923-932.
- Steel R.G.D. and Torrie J.H. 1980. *Principales and procedures of statistics: a biometrical approach*. McGrawhill. Auckland. 1981 2nd edition. P. 632.
- Sullivan J.S., Knabe D.A., Bockholt A.J., Greg E.J. 1989. Nutritional value of quality protein maize and food corn for starter and growth pigs. *Journal Animal Sciences* 67(5):1285-1292.
- Tanaka A., Yamguchi J. 1972. Dry matter production, yield components and grain yield of the maize plant. *Journal of the Faculty of Agriculture, Hokkaido University* 57: 71-132.
- Tanumihardjo S.A. 2008. Food-based approaches for ensuring adequate vitamin A nutrition. *Comp. Rev. Food Sci. Food Safety* 7: 373-381
- Tanumihardjo S.A., Palacios N., Pixley K. 2010. Provitamin A carotenoid bioavailability: What really matters? *Int. J. Vitam Nutr. Res.* 80:336-350.

- Tester, R.F., Karkalas, I., Qi, X. 2004. Starch structure and digestibility Enzyme-substrate relationship. *World's Pout. Sci. J.* 60: 186-195.
- Tsuda T., Horio F., Uchida K., Aoki H. 2003. Dietary cyanidin 3-O- β -D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. *Nutrient-gene Interactions* 2125-2130.
- USDA. United States Department of Agriculture. 2009. National nutrient database for standard reference. Available from: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>. Accessed Sept and Oct 2009.
- Vasal S. 1993a. Heterosis and combining ability of CIMMYT's Quality Protein Maize germplasm: Lowland tropical. *Crop Science* 33:46-51.
- Vasal, S.K., G. Srinivasan, S. Pandey, C.F. Gonzalez, J. Crossa, and D.L. Beck. 1993b. Heterosis and combining ability of CIMMYT's quality protein maize germplasm: I. Lowland tropical. *Crop Science* 33:46-51.
- Vivek B.S. 2008 Breeding Quality maize (QPM): Protocols for Developing QPM cultivars. CIMMYT. pp. 50.
- Weber E.J. 1987. Lipids of the kernel. In: Watson S.A. Ramstad P.E., editors. *Corn: chemistry and technology*. St. Paul, Minn.: Am. Assoc. Cereal Chem. p. 311-349.
- Welch R.M., Graham R.D. 1999. A new paradigm for world Field Crops *Research* 60:1-10.
- Welch R., Graham R. 2004. Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. *Journal of Experimental Botany* 55: 353- 364.
- WHO / FAO. World Health Organization and Food and Agricultural Organization. 2009. Micronutrient malnutrition: a public health problem. In: Allen L., de Benoist B.,

- Daray O., Hurrell R., editors. Guidelines on food fortification with micronutrients. Available from http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/guide_food_fortification_micronutrients.pdf. Accessed Oct 2009.
- WHO . World Health Organization. 2011. Micronutrient deficiencies. Available from: <http://www.who.int/nutrition/topics/vad/en/>. Accessed Nov 2011.
- World Bank. 2011. Repositioning Nutrition as Central to Development: A Strategy for Large-Scale Action. The International Bank Reconstruction and Development, The World Bank, Washington D.C.
- Wright K.N. 1987. Nutritional properties and feeding value of corn and its by-products. In: Watson S.A., Ramstad P.E., editors. Corn: chemistry and technology. St. Paul, Minn.: Am. Assoc. Cereal Chem. p. 447-478.
- Yan W., Kang M.S. 2003. GGE biplot analysis: A graphical tool for breeders, geneticists and agronomists. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Yan M. 2008. The role of zinc in molecular and cellular events in the prostate. ProQuest pp. 157.
- Yan J., Bermudez-Kandianis C.B., Harjes C.E., Bai L., Kim E., Yang X., Skinner D., Fu Z., Mitchell S., Li Q., Salas-Fernández M., Zaharieva M., Babu R., Fu Y., Palacios N., Li J., DellaPenna D., Brutnell T., Buckler E., Warburton M., Rocherford T. 2010. Rare genetic variation at *Zea mays* CrtRB1 increases B-carotene in maize grain. *NatGenet.* 42:322-327.
- Yilmaz A., Ekiz H., Tourn B., Gultekin I., Karnaliks S., Bagci S.A., Cakmak I. 1997. Effect of different zinc application methods on grain yield and zinc concentration in wheat cultivars grown on zinc-deficient calcareous soils. *Journal of Plant Nutrition* 20: 461-471.
- Yusheng W., Campbell M., Yang Y., Dawn D., Zeno Wicks III. 2006. Amylose content in amylo maize VII varied in different generations and at different locations. SDSU.

Zhu C., Naquis S., Gómez G.S., Pelacho A., Christou t. 2007. Transgenic strategies for the nutritional enhancement of plants. *Trends in Plant Science* 12: 548-555.

7. APÉNDICE

Cuadro A-1. Líneas utilizadas para la formación de híbridos, los cuales fueron evaluados para medir aptitud combinatoria.

No. Línea	Genealogía	Grupo Heterótico
1	([CML197/N3//CML206]-X-32-1-4-B*5/[BETASYN]BC1-4-4-4-1/CML305)-1-3	A
2	(CML300/CML486)-1-5	A
3	(CML300/CML486)-2-5	A
4	(CML300/CML486)-5-3	A
5	(CML300/CML486)-7-2	A
6	(CML305/CML486)-5-2	A
7	[[CML 312/MAS[MSR/312]-117-2]-B-91-3-B-B/[BETASYN]BC1-14-3-2-#[CML 312/MAS[MSR/312]-117-2]-B-91-3-B-B/[BETASYN]BC1-14-3-2//KUISYN#]-14-1	A
8	[MAS[MSR/312]-117-2-2-1-B-B-B/[BETASYN]BC1-4-1-4-#[MAS[MSR/312]-117-2-2-1-B-B-B/[BETASYN]BC1-4-1-4/KUI+SC55SYN#]-4-1	A
9	[MAS[MSR/312]-117-2-2-1-B-B-B/[BETASYN]BC1-4-1-4-#[MAS[MSR/312]-117-2-2-1-B-B-B/[BETASYN]BC1-4-1-4/KUI+SC55SYN#]-8-1	A
10	[MAS[MSR/312]-117-2-2-1-B-B-B/[BETASYN]BC1-11-1-4-#[MAS[MSR/312]-117-2-2-1-B-B-B/[BETASYN]BC1-11-1-4/FloridaASYN#]-6-1	A
11	[[[EV7992]C1F2-430-3-3-3-X-7-B-B/CML202]-6-2-2-3-B*3/[BETASYN]BC1-4-3-5-#[[EV7992]C1F2-430-3-3-3-X-7-B-B/CML202]-6-2-2-3-B*3/[BETASYN]BC1-4-3-5/KUISYN#]-2-1	A
12	[CML445/[BETASYN]BC1-1-2-6-#[CML445/[BETASYN]BC1-1-2-6/KUI+SC55SYN#]-4-1	A
13	SAM4(ProA)BC1/KUISyn#-1-36-1-1	A
14	SAM4(ProA)BC1/KUISyn#-1-46-2-2	A

Cuadro A-1. Continuación.

No. Línea	Genealogía	Grupo Heterótico
15	SAM4(ProA)BC1/FloridaAplusSyn#-1-2-	A
16	((DTPYC9-F65-2-3-1-1-B-BxDTPYC9-F65-2-2-1-1-B-B)xDTPYC9-F102-4-5-1-1-B-B-B)-B-B-1-2	A
17	((DTPYC9-F65-2-3-1-1-B-BxDTPYC9-F65-2-2-1-1-B-B)xDTPYC9-F46-3-9-1-2-B-B-B)-B-B-7-2	A
18	((DTPYC9-F65-2-3-1-1-B-BxDTPYC9-F65-2-2-1-1-B-B)xDTPYC9-F38-4-3-1-2-B-B-B)-B-B-1-2	A
19	((DTPYC9-F65-2-3-1-1-B-BxDTPYC9-F65-2-2-1-1-B-B)xDTPYC9-F46-1-7-1-1-B-B-B)-B-B-3-2	A
20	((DTPYC9-F65-2-3-1-1-B-BxDTPYC9-F65-2-2-1-1-B-B)xDTPYC9-F46-1-7-1-1-B-B-B)-B-B-9-1	A
21	/((DTPYC9-F65-2-3-1-1-B-BxDTPYC9-F65-2-2-1-1-B-B)xDTPYC9-F74-1-1-1-1-B-B-B)-B-B-17-1	A
22	((DTPYC9-F65-2-2-1-1-B-BxDTPYC9-F65-2-3-1-1-B-B)xCML-451)-B-B-1-2	B
23	[[[K64R/G16SR]-39-1/[K64R/G16SR]-20-2]-5-1-2-B*4/CML390]-B-38-1-B-7-#[BETASYN]BC1-1-1-1-#/CML305)-5-2	B
24	[[[K64R/G16SR]-39-1/[K64R/G16SR]-20-2]-5-1-2-B*4/CML390]-B-38-1-B-7-#[BETASYN]BC1-1-1-1-#/CML305)-5-2	B
25	[[[K64R/G16SR]-39-1/[K64R/G16SR]-20-2]-5-1-2-B)*4/CML390]-B-38-1-B-7-#[BETASYN]BC1-1-1-1-#/KUI carotenoid syn-FS25-3-2-B)-4-3	B
26	([[[NAW5867/P30SR]-40-1/[NAW5867/P30SR]-114-2]-16-2-2-B-2-B/CML395-6]-B-20-1-B-3-#[BETASYN]BC1-3-1-1-#/Carotenoid Syn3-FS11-4-3-B)-3-2	B
27	[[GQL5/[GQL5/[MSRXPOOL9]C1F2-205-1(OSU23i)-5-3-X-X-1-B-B]F2-4sx]-8-4-B/[BETASYN]BC1-3-2-2/[GQL5/[GQL5/[MSRXPOOL9]C1F2-205-1(OSU23i)-5-3-X-X-1-B-B]F2-4sx]-8-4-B/[BETASYN]BC1-3-2-2/KUISYN#]-1-1	B

Cuadro A-1. Continuación.

No. Línea	Genealogía	Grupo Heterótico
28	[[GQL5/[GQL5/[MSRXPOOL9]C1F2-205-1(OSU23i)-5-3-X-X-1-B-B]F2-4sx]-8-4-B//[BETASYN]BC1-7-4-3-#[GQL5/[GQL5/[MSRXPOOL9]C1F2-205-1(OSU23i)-5-3-X-X-1-B-B]F2-4sx]-8-4-B/[BETASYN]BC1-7-4-3/KUISYN#]-4-1	B
29	[[GQL5/[GQL5/[MSRXPOOL9]C1F2-205-1(OSU23i)-5-3-X-X-1-B-B]F2-4sx]-8-6-B-B//[BETASYN]BC1-14-2-1-#[GQL5/[GQL5/[MSRXPOOL9]C1F2-205-1(OSU23i)-5-3-X-X-1-B-B]F2-4sx]-8-6-B-B/[BETASYN]BC1-14-2-1/KUISYN#]-1-2	B
30	[[GQL5/[GQL5/[MSRXPOOL9]C1F2-205-1(OSU23i)-5-3-X-X-1-B-B]F2-4sx]-8-6-B-B//[BETASYN]BC1-14-2-1-#[GQL5/[GQL5/[MSRXPOOL9]C1F2-205-1(OSU23i)-5-3-X-X-1-B-B]F2-4sx]-8-6-B-B/[BETASYN]BC1-14-2-1/KUISYN#]-5-3	B
31	[[GQL5/[GQL5/[MSRXPOOL9]C1F2-205-1(OSU23i)-5-3-X-X-1-B-B]F2-4sx]-8-6-B-B//[BETASYN]BC1-14-2-1-#[GQL5/[GQL5/[MSRXPOOL9]C1F2-205-1(OSU23i)-5-3-X-X-1-B-B]F2-4sx]-8-6-B-B/[BETASYN]BC1-14-2-1/KUISYN#]-7-1	B
32	[[GQL5/[GQL5/[MSRXPOOL9]C1F2-205-1(OSU23i)-5-3-X-X-1-B-B]F2-4sx]-8-6-B-B//[BETASYN]BC1-14-2-1-#[GQL5/[GQL5/[MSRXPOOL9]C1F2-205-1(OSU23i)-5-3-X-X-1-B-B]F2-4sx]-8-6-B-B/[BETASYN]BC1-14-2-1/KUISYN#]-9-3	B
33	[[GQL5/[GQL5/[MSRXPOOL9]C1F2-205-1(OSU23i)-5-3-X-X-1-B-B]F2-4sx]-8-6-B-B//[BETASYN]BC1-14-2-1-#[GQL5/[GQL5/[MSRXPOOL9]C1F2-205-1(OSU23i)-5-3-X-X-1-B-B]F2-4sx]-8-6-B-B/[BETASYN]BC1-14-2-1/KUISYN#]-16-1	B

Cuadro A-1 Continuación

No. Línea	Genealogía	Grupo Heterótico
34	/[[GQL5/[GQL5/[MSRXPOOL9]C1F2-205-1(OSU23i)-5-3-X-X-1-B-B]F2-4sx]-8-6-B-B/[BETASYN]BC1-14-2-1-#[GQL5/[GQL5/[MSRXPOOL9]C1F2-205-1(OSU23i)-5-3-X-X-1-B-B]F2-4sx]-8-6-B-B/[BETASYN]BC1-14-2-1/KUISYN#]-17-1	B
35	[[GQL5/[GQL5/CML202]F2-1sx]-3-1-2-B/[BETASYN]BC1-6-1-3-#[GQL5/[GQL5/CML202]F2-1sx]-3-1-2-B/[BETASYN]BC1-6-1-3/KUI+SC55SYN#]-5-1	B
36	[ZM305(ProA)BC1/KUISYN#-1]-51-6-1	B
37	[ZM305(ProA)BC1/KUI+SC55SYN#-1]-31-2-1	B
38	[ZM305(ProA)BC1/KUI+SC55SYN#-1]-32-2-1	B

Cuadro A-2. Probadores utilizados para la formación de híbridos, los cuales fueron evaluados para medir aptitud combinatoria.

No. Probador	Genealogía	Grupo Heterótico
1-B	(Ac8730SR-##-124-1-5-B-1-#[BETASYN]BC1-5-#-B-B/CML489/[BETASYN]BC1-2-#-B-B)	B
2-B	[[[K64R/G16SR]-39-1/[K64R/G16SR]-20-2]-5-1-2-B*4/CML390]-B-38-1-B-7-#[BETASYN]BC1-1-1-1-#-B-B-B/CML324-B-B-B-B)	B
3-B	(CML488/[BETASYN]BC1-15-7-1-1-B/CML489/[BETASYN]BC1-2-#-B-B)	B
1-A	([CML197/N3//CML206]-X-32-1-4-B*5/[BETASYN]BC1-4-4-4-1-B-B-B/CML-297-B-B-B-B)	A
2-A	(MAS[206/312]-23-2-1-1-B-B-B/[BETASYN]BC1-10-3-#-B-B/MAS[206/312]-23-2-1-1-B-B-B/[BETASYN]BC1-11-3-1-#-B-B)	A
3-A	(CML488/[BETASYN]BC1-15-7-1-1-B/MAS[206/312]-23-2-1-1-B-B-B/[BETASYN]BC1-11-3-1-#-B-B)	A

Cuadro A-3. Híbridos que fueron analizados bioquímicamente para determinar el contenido de carotenos:

Provitamina A, zeaxantina, luteína, beta-caroteno, beta-cryptozantina. A continuación se muestran las concentraciones de cada caroteno para cada híbrido en las distintas localidades.

No. Híbrido	Hembra	Macho	Grupo Heterótico	Sitio y Tratamiento	Lut	Zeax	B-Cry	B-Caro	ProA	Peso de Campo g
					$\mu\text{g g}^{-1}$					
1	1-B	1	A	TCN	4.47	10.19	5.78	3.22	6.11	1600
1	1-B	1	A	TLC	4.42	1.28	3.10	1.37	2.92	1640
1	1-B	1	A	AFCN	4.11	5.53	3.20	1.34	2.94	3050
2	2-B	1	A	TCN	4.33	9.43	5.04	2.06	4.58	2090
2	2-B	1	A	TLC	3.70	3.52	3.27	2.09	3.73	3340
2	2-B	1	A	AFCN	2.58	4.83	4.34	2.08	4.25	2250
3	3-B	1	A	TCN	2.90	5.76	6.34	1.90	5.07	2640
3	3-B	1	A	TLC	3.70	2.83	4.51	2.28	4.53	4940
3	3-B	1	A	AFCN	4.50	4.78	3.44	2.06	3.79	3170
4	1-B	2	A	TCN	2.76	10.04	4.95	0.88	3.36	3080
4	1-B	2	A	TLC	5.48	12.63	5.31	1.76	4.41	3680
4	1-B	2	A	AFCN	3.49	8.81	4.99	1.10	3.60	2560
5	2-B	2	A	TCN	4.51	15.04	4.17	1.59	3.67	2280
5	2-B	2	A	TLC	3.43	10.76	3.29	0.90	2.55	3700
5	2-B	2	A	AFCN	3.58	13.89	3.08	1.21	2.75	2280
6	3-B	2	A	TCN	3.25	8.60	5.93	1.79	4.75	3240
6	3-B	2	A	TLC	2.86	11.66	7.31	2.68	6.37	4460
6	3-B	2	A	AFCN	3.18	5.29	2.86	1.45	2.89	3520
7	1-B	3	A	TCN	3.65	6.79	7.617	3.39	7.20	4220
7	1-B	3	A	TLC	3.43	5.17	4.0541	0.91	2.94	3660

Cuadro A-3. Continuación

No. Híbrido	Hembra	Macho	Grupo Heterótico	Sitio y Tratamiento	Lut	Zeax	B-Cry	B-Caro	ProA	Peso de Campo g
					$\mu\text{g g}^{-1}$					
7	1-B	3	A	AFCN	3.79	7.45	2.53	0.98	2.24	4340
8	2-B	3	A	TCN	4.54	5.08	4.29	1.85	4	3280
8	2-B	3	A	TLC	1.89	7.70	4.84	1.45	3.88	4460
8	2-B	3	A	AFCN	4.24	5.71	4.50	1.13	3.38	2800
9	3-B	3	A	TCN	2.81	5.82	7.42	1.88	5.60	3920
9	3-B	3	A	TLC	3.90	4.55	5.81	2.14	5.05	4000
9	3-B	3	A	AFCN	2.98	5.73	3.89	1.69	3.64	3830
10	1-B	4	A	TCN	1.80	8.89	6.35	1.74	4.92	4140
10	1-B	4	A	TLC	4.17	7.61	7.64	4.34	8.16	5220
10	1-B	4	A	AFCN	2.80	13.13	4.97	2.11	4.60	4410
11	2-B	4	A	TCN	2.26	12.10	5.96	2.46	5.44	3600
11	2-B	4	A	TLC	2.23	12.24	7.10	2.35	5.90	4720
11	2-B	4	A	AFCN	2.46	3.67	3.13	1.47	3.04	3020
12	3-B	4	A	TCN	3.22	6.15	5.11	2.13	4.68	3060
12	3-B	4	A	TLC	3.04	5.22	6.56	1.89	5.17	1560
12	3-B	4	A	AFCN	2.81	5.12	1.96	0.78	1.76	4100
13	1-B	5	A	TCN	4.87	5.76	5.85	1.86	4.79	3180
13	1-B	5	A	TLC	3.65	6.00	6.50	2.36	5.61	4780
13	1-B	5	A	AFCN	5.17	5.44	5.28	2.42	5.06	3900
14	2-B	5	A	TCN	2.01	4.19	3.49	1.64	3.39	3200

Cuadro A-3. Continuación

No. Híbrido	Hembra	Macho	Grupo Heterótico	Sitio y Tratamiento	Lut µg/g	Zeax µg/g	B-Cry µg/g	B-Caro µg/g	ProA µg/g	Peso de Campo
14	2-B	5	A	TLC	6.51	11.26	7.31	2.47	6.13	4680
14	2-B	5	A	AFCN	3.53	7.04	4.39	1.58	3.77	3480
15	3-B	5	A	TCN	3.81	3.19	5.15	1.47	4.05	3940
15	3-B	5	A	TLC	3.69	3.91	5.11	2.56	5.12	4900
15	3-B	5	A	AFCN	3.37	4.28	5.40	1.36	4.06	4050
16	1-B	6	A	TCN	3.02	7.51	3.94	0.63	2.60	.
16	1-B	6	A	TLC	3.17	11.97	2.97	1.78	3.26	4860
16	1-B	6	A	AFCN	3.03	7.10	1.10	2.71	2.71	3490
17	2-B	6	A	TCN	5.75	15.27	3.18	1.55	3.14	.
17	2-B	6	A	TLC	3.71	12.47	3.57	1.64	3.42	3420
17	2-B	6	A	AFCN	3.32	6.85	0.87	2.22	2.22	2710
18	3-B	6	A	TCN	3.68	13.35	4.26	1.27	3.40	.
18	3-B	6	A	TLC	3.73	10.10	3.22	1.80	3.40	3040
18	3-B	6	A	AFCN	2.79	6.88	0.91	2.48	2.48	3880
19	1-B	7	A	TCN	6.41	13.50	6.1	4.12	7.13	.
19	1-B	7	A	TLC	5.81	8.87	3.39	3.44	5.14	1940
19	1-B	7	A	AFCN	3.16	7.97	1.64	3.00	3.00	2730
20	2-B	7	A	TCN	4.64	29.12	4.57	2.53	4.81	.
20	2-B	7	A	TLC	3.46	7.78	4.29	5.21	7.36	3180
20	2-B	7	A	AFCN	3.31	16.08	1.45	3.21	3.21	2350

Cuadro A-3. Continuación

No. Híbrido	Hembra	Macho	Grupo Heterótico	Sitio y Tratamiento	Lut $\mu\text{g g}^{-1}$	Zeax $\mu\text{g g}^{-1}$	B-Cry $\mu\text{g g}^{-1}$	B-Caro $\mu\text{g g}^{-1}$	ProA $\mu\text{g g}^{-1}$	Peso de Campo g
21	3-B	7	A	TCN	4.47	10.37	1.98	3.86	4.85	.
21	3-B	7	A	TLC	2.81	11.10	3.92	2.49	4.45	3040
21	3-B	7	A	AFCN	3.77	7.99	1.50	3.06	3.06	3260
22	1-B	8	A	TCN	6.85	14.93	4.69	2.87	5.21	.
22	1-B	8	A	TLC	6.47	23.20	8.22	3.82	7.93	3500
22	1-B	8	A	AFCN	5.34	12.59	2.21	4.45	4.45	3690
23	2-B	8	A	TCN	4.5	14.09	6.00	3.62	6.62	.
23	2-B	8	A	TLC	7.56	22.57	5.20	2.93	5.54	3640
23	2-B	8	A	AFCN	4.98	15.48	2.18	4.34	4.34	2080
24	3-B	8	A	TCN	6.05	14.26	5.93	4.32	7.29	.
24	3-B	8	A	TLC	3.82	14.65	7.34	5.47	9.15	2700
24	3-B	8	A	AFCN	4.30	12.47	2.53	4.91	4.91	1780
25	1-B	9	A	TCN	6.82	12.02	4.94	2.08	4.55	3580
25	1-B	9	A	TLC	8.33	7.97	6.32	2.98	6.14	2900
25	1-B	9	A	AFCN	6.95	10.44	3.75	1.76	3.64	2780
26	2-B	9	A	TCN	3.58	24.62	7.58	2.36	6.16	4300
26	2-B	9	A	TLC	6.50	18.51	7.42	2.75	6.46	4560
26	2-B	9	A	AFCN	4.71	14.04	4.14	1.80	3.87	1730
27	3-B	9	A	TCN	5.19	14.33	6.52	2.97	6.22	3240
27	3-B	9	A	TLC	3.82	10.46	4.57	1.56	3.85	2480

Cuadro A-3. Continuación

No. Híbrido	Hembra	Macho	Grupo Heterótico	Sitio y Tratamiento	Lut	Zeax	B-Cry	B-Caro	ProA	Peso de Campo g
					$\mu\text{g g}^{-1}$					
27	3-B	9	A	AFCN	7.35	13.41	3.57	1.96	3.75	2700
28	1-B	10	A	TCN	3.85	8.14	6.38	3.85	7.04	3140
28	1-B	10	A	TLC	4.47	5.78	3.03	1.16	2.68	3100
28	1-B	10	A	AFCN	4.04	8.27	4.16	2.81	4.89	2820
29	2-B	10	A	TCN	5.33	10.46	7.50	3.72	7.47	2920
29	2-B	10	A	TLC	8.60	2.40	3.90	2.05	3.99	3100
29	2-B	10	A	AFCN	4.05	6.25	3.10	3.02	4.58	1300
30	3-B	10	A	TCN	3.46	3.51	4.17	2.82	4.90	4190
30	3-B	10	A	TLC	4.67	11.64	5.21	2.43	5.04	3920
30	3-B	10	A	AFCN	3.62	4.22	3.41	2.12	3.83	2460
31	1-B	11	A	TCN	3.30	5.45	3.36	0.59	2.27	3060
31	1-B	11	A	TLC	5.75	4.11	3.08	1.07	2.61	3280
31	1-B	11	A	AFCN	2.75	3.45	2.53	0.23	1.5	3690
32	2-B	11	A	TCN	5.00	12.32	7.23	2.34	5.96	3880
32	2-B	11	A	TLC	4.91	4.09	3.94	2.14	4.11	3740
32	2-B	11	A	AFCN	2.90	6.68	3.02	0.99	2.50	2960
33	3-B	11	A	TCN	6.09	12.30	5.71	1.96	4.81	3640
33	3-B	11	A	TLC	3.95	6.73	5.67	3.36	6.20	3780
33	3-B	11	A	AFCN	3.94	5.44	4.48	1.59	3.84	3680
34	1-A	12	B	TCN	2.76	6.55	6.15	2.85	5.92	1780

Cuadro A-3. Continuación

No. Híbrido	Hembra	Macho	Grupo Heterótico	Sitio y Tratamiento	Lut	Zeax	B-Cry	B-Caro	ProA	Peso de Campo g
					$\mu\text{g g}^{-1}$					
34	1-A	12	B	TLC	3.06	3.86	6.21	2.06	5.17	4880
34	1-A	12	B	AFCN	4.03	1.66	4.88	1.21	3.66	3130
35	2-A	12	B	TCN	1.96	2.2	3.78	2.38	4.27	3000
35	2-A	12	B	TLC	1.66	3.26	4.31	3.17	5.33	4700
35	2-A	12	B	AFCN	1.12	2.24	3.26	1.70	3.33	2770
36	3-A	12	B	TCN	3.14	5.17	5.09	4.88	7.42	2940
36	3-A	12	B	TLC	3.04	4.12	5.76	2.54	5.43	4780
36	3-A	12	B	AFCN	3.06	7.40	7.45	3.07	6.79	2310
37	1-A	13	B	TCN	4.31	14.60	5.12	1.75	4.31	1600
37	1-A	13	B	TLC	4.83	12.12	4.12	2.23	4.29	4360
37	1-A	13	B	AFCN	5.06	14.56	6.33	2.75	5.92	4020
38	2-A	13	B	TCN	4.58	8.67	4.95	0.80	3.27	2760
38	2-A	13	B	TLC	3.58	5.86	3.83	2.63	4.55	4280
38	2-A	13	B	AFCN	2.76	4.26	2.74	1.82	3.19	3970
39	3-A	13	B	TCN	3.56	3.18	3.76	1.94	3.82	3120
39	3-A	13	B	TLC	3.24	9.11	3.21	3.62	5.22	4280
39	3-A	13	B	AFCN	2.37	3.44	4.71	1.85	4.20	3720
40	1-A	14	B	TCN	3.65	8.40	4.32	1.04	3.20	3700
40	1-A	14	B	TLC	1.65	2.20	2.01	0.90	1.90	5120
40	1-A	14	B	AFCN	2.85	6.02	3.93	2.47	4.44	4920

Cuadro A-3. Continuación

No. Híbrido	Macho	Grupo Heterótico	Sitio y Tratamiento	Lut	Zeax	B-Cry	B-Caro	ProA	Peso de Campo g	
				$\mu\text{g g}^{-1}$						
41	2-A	14	B	TCN	2.21	3.56	4.82	3.17	5.58	3630
41	2-A	14	B	TLC	2.13	2.40	2.83	2.96	4.38	3940
41	2-A	14	B	AFCN	2.06	2.05	3.57	2.45	4.24	3630
42	3-A	14	B	TCN	3.54	2.63	4.00	2.07	4.08	2660
42	3-A	14	B	TLC	2.79	0.87	3.18	2.40	3.99	1900
42	3-A	14	B	AFCN	3.20	4.85	1.84	3.23	3.06	.