



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

Cuernavaca, Morelos, 13 de noviembre de 2020.

**Asunto:** Voto Aprobación de Tesis.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS.**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **“SELECCIÓN DE LÍNEAS DE MAÍZ TOLERANTES A LA SEQUÍA MEDIANTE MARCADORES MORFOLÓGICOS Y MOLECULARES SSR”**. que presenta: **M.C. ELIZABETH IBARRA SÁNCHEZ**, mismo que fue desarrollado bajo mi dirección y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
***Por una humanidad culta***  
*Una universidad de excelencia*

**DR. ANTONIO CASTILLO GUTIÉRREZ**  
**Comité Evaluador**

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209  
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 3304. fagropecuarias@uaem.mx





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**ANTONIO CASTILLO GUTIERREZ | Fecha:2020-11-13 14:22:57 | Firmante**

t1ugSyyG7nzFymL3l2nUaQackEm9sdyGnJbeQF2Ky7b1rxVYrCmecESkAI8b9LLiiHfVJc1GJ180RQos+cltHsYhpB8eIR5j4ksdlfENlgaofg4xloo1S95APrPYKBjVOHNgcN7vK9ZEoV3hkFJgcOW7FoY5z4/3F7b3l1zef9+4layVMUOTlqX5VST/4POPK4mpjHZkF2jXj951QMMChLY/AHnmuWKRWauRILZW/kjS3yul4VnBwYa7R688Gzi6PQ8hluZBPv+WvJscMizd1RDieaFEb7LMC/h3VMCoCXmqotQbQyOBpLw3+XaUnJP7braj4phNjR1bEdlmenA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



yVksQi

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/0tQmO22r3Ing9smz8CvJDNeHh8d1Z8t4>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

JEFATURA DE PROGRAMAS EDUCATIVOS DE POSGRADO

Cuernavaca, Morelos, 13 de noviembre de 2020.

**Asunto:** Voto Aprobación de Tesis.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS.**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **“SELECCIÓN DE LÍNEAS DE MAÍZ TOLERANTES A LA SEQUÍA MEDIANTE MARCADORES MORFOLÓGICOS Y MOLECULARES SSR”**. que presenta: **M.C. ELIZABETH IBARRA SÁNCHEZ**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. ANTONIO CASTILLO GUTIÉRREZ** y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
***Por una humanidad culta***  
*Una universidad de excelencia*

**DR. OSCAR GABRIEL VILLEGAS TORRES**  
**Comité Evaluador**

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209  
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 3304. fagropecuarias@uaem.mx



*Una universidad de excelencia*

RECTORÍA  
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**OSCAR GABRIEL VILLEGAS TORRES | Fecha:2020-11-13 18:15:45 | Firmante**

LA+kQRFGRPEmL76AvgNsUGgQlj0F90eC6SCa5vcu/xXQZFTCrCHU/Fdlb3FC66DCbJhoVIW0TUnAL2iAZIhFAC+mnOlttJZV8+rZsO/8xShpO/haYk8nCmACyiSZJRR7vmjVaK7cph9xYR/MxuXtb8i3/fLEN+r9HeFoAJ4NyHOCmYDqxQDZXkztZhy1bNYmpZ2LwhC0t854PViaXcps8uHEwzW1tujzFDL5+oL0MLX+xKRKAgX4/vg9B0wrnSlrxacLfs3RTN+6lslUjJLWn3r5L6WUcpUHld4KSA+ySaqgnEo9lN2lBEgfWyb7lZXiD3yUMmFbV0Nik6Uc8nnA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[Av9qaN](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/IYBWGnh26tiNkhzE6V4RIXS2NhyvuOet>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

JEFATURA DE PROGRAMAS EDUCATIVOS DE POSGRADO

Cuernavaca, Morelos, 13 de noviembre de 2020.

**Asunto:** Voto Aprobación de Tesis.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS.**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **“SELECCIÓN DE LÍNEAS DE MAÍZ TOLERANTES A LA SEQUÍA MEDIANTE MARCADORES MORFOLÓGICOS Y MOLECULARES SSR”**.que presenta: **M.C. ELIZABETH IBARRA SÁNCHEZ**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. ANTONIO CASTILLO GUTIÉRREZ** y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
***Por una humanidad culta***  
*Una universidad de excelencia*

**DR. DAGOBERTO GUILLEN SÁNCHEZ**  
**Comité Evaluador**

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209  
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 3304. fagropecuarias@uaem.mx



*Una universidad de excelencia*

RECTORÍA  
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**DAGOBERTO GUILLEN SANCHEZ** | Fecha:2020-11-13 14:17:06 | Firmante

Art5Q0venz7TH/p3NjgB+SydbuwnT83hqpfRNtHSns3ri88uG9+MNPSTuhZLB8iZNheHPdftoldfxWBdruXnh8ZdkK730YKt+5aSV9k98Y3xLOcl94BnoYzyWQkxZlvtk7QP5neVxCLJ8r0cPJXK1AA+HmHulhfjiD7iwPr7Z8R7gAZ76w0MiAfzMX1/TyrD61Ayqo1aRRQk6uJx054t4mCMHr8V2eO4TNGJQ8Bi5PL0Qj2pAPkEsQwdELPmBEyVw6/jolwiUF+y15CLimmPn/+Z+g6qWVXN3Ei+93f83kiJmefFV/gGZ8eM2rBaqpzEKYY1j8Qcs4+mx+txj/VeyQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



vqZFEI

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/7CIGTf7NSDDAt59M4J9UNIi3CLBJFVJL>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

JEFATURA DE PROGRAMAS EDUCATIVOS DE POSGRADO

Cuernavaca, Morelos, 13 de noviembre de 2020.

**Asunto:** Voto Aprobación de Tesis.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS.**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **“SELECCIÓN DE LÍNEAS DE MAÍZ TOLERANTES A LA SEQUÍA MEDIANTE MARCADORES MORFOLÓGICOS Y MOLECULARES SSR”**. que presenta: **M.C. ELIZABETH IBARRA SÁNCHEZ**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. ANTONIO CASTILLO GUTIÉRREZ** y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
***Por una humanidad culta***  
*Una universidad de excelencia*

**DR. FRANCISCO PERDOMO ROLDAN**  
**Comité Evaluador**

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209  
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 3304. fagropecuarias@uaem.mx



*Una universidad de excelencia*

RECTORÍA  
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**FRANCISCO PERDOMO ROLDAN | Fecha:2020-11-17 10:39:32 | Firmante**

OMb0UUnctZ3P3nipidDSPbZyjC+Uib9gGUgGFv0+/hbJkoeQ/dFEp96Om5rPEV6JtC19ra/kc1YmQryXXKL5jR7gUZlIKkFEwxC3sP98ggiouXooGdYJA7LL8ZvsE69YBpUwucok4q/hpBXkyBRphVR4cZDbswxGeFBQqRuwy267xhwgCYxb9MNBAVV9RYaWpH7Vzcqkqo+kT9nKhflqO9wMjQxLJB80ekx2R/Hc9H1y3fmhKBLBi9Uhr/Iu3xgPQjRiIL9tGssyGyyEA9NtJiteSd1ktcx1blV+ZLFmipwlqxJGGA8mi0U9gGOvyit+x8jN67pcpMturFUa9Hqw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



2a4iWd

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/szN3PFExpsKNYr8hourUeE96wpXa6aSy>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
JEFATURA DE PROGRAMAS EDUCATIVOS DE POSGRADO

Cuernavaca, Morelos, 13 de noviembre de 2020.

**Asunto:** Voto Aprobación de Tesis.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS.**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **“SELECCIÓN DE LÍNEAS DE MAÍZ TOLERANTES A LA SEQUÍA MEDIANTE MARCADORES MORFOLÓGICOS Y MOLECULARES SSR”**.que presenta: **M.C. ELIZABETH IBARRA SÁNCHEZ**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. ANTONIO CASTILLO GUTIÉRREZ** y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
***Por una humanidad culta***  
*Una universidad de excelencia*

**DRA. MARÍA ANDRADE RODRÍGUEZ**  
**Comité Evaluador**

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209  
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 3304. fagropecuarias@uaem.mx





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**MARIA ANDRADE RODRIGUEZ** | Fecha:2020-12-02 17:57:32 | Firmante

dfgNvhxq385orele97NT2iSJuVr7vxLQq6t8X8/NEu9GXkSXFk4xr60NA0KMHRLnKYsE8w4uVdOFrhheRkPFYLaD9fvqqUOm/rxG/Pn4WHRr7HiT8bg+qKAaGjbsQ30mNDsp8Sz1iP2/M84XILnBYD0CHqpWonzA7/5+jxbOk6UREkBIByZHHguAUkBXNvU+Xj0aylZbdj8XYdKhV6p/+ObpfpVcwTfS1+3AWSvDieYNlppnCTjCFIj2lQjB/LJc++xZsm0SfMpr7aykGdJwFXbKlK1sXo076P1EdFMiiEYnWqdx/Lbf+JYUXwCwRQYhmM8dGJ+AfvvEM9Jx82SQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[h7IZS4](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/nHFCrnUJWIGpCUXYE1cASosiVoxnjmRM>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

JEFATURA DE PROGRAMAS EDUCATIVOS DE POSGRADO

Cuernavaca, Morelos, 13 de noviembre de 2020.

**Asunto:** Voto Aprobación de Tesis.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS.**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **“SELECCIÓN DE LÍNEAS DE MAÍZ TOLERANTES A LA SEQUÍA MEDIANTE MARCADORES MORFOLÓGICOS Y MOLECULARES SSR”**.que presenta: **M.C. ELIZABETH IBARRA SÁNCHEZ**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. ANTONIO CASTILLO GUTIÉRREZ** y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
***Por una humanidad culta***  
*Una universidad de excelencia*

**DR. RAMÓN SUAREZ RODRÍGUEZ**  
**Comité Evaluador**

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209  
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 3304. fagropecuarias@uaem.mx



*Una universidad de excelencia*

RECTORÍA  
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**RAMON SUAREZ RODRIGUEZ | Fecha:2020-11-13 13:48:25 | Firmante**

s2hO92Peg65ekvz/hn/amycyedZNTDNQTkO/g09oYRhysu0Flkiq5dHywAicTKin+ruYt5V9Szmnyzez+h008wdxpt2gJsIVMGfQHCUkam8M7XH7fDd5/7oMZIn8BtmfuQ/KztAc6na1sHEI21bCifi1/mSBPwzFnA0f0aGw80XkqMpy0m/1PYzzvkN7brlVkJ1b2gUI9cj9SBgFdzoYnTK5ZKs6bh+kzDuphCAysGDO41mIYYHglZITaOLxy1VAtRfjxshC4Sv0vzQAGWJVICXKyh1TdJOz4E1+6ZPQVzUbnBOO9j7A1neHqlVZWCheTJHzfJLEbQ7E80AnxIVrA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



**ILB0VE**

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/AeqhspfCL9mcWj0Git7ZO9uddzx90s6h>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

Cuernavaca, Morelos, 13 de noviembre de 2020.

**Asunto:** Voto Aprobación de Tesis.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS.**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **“SELECCIÓN DE LÍNEAS DE MAÍZ TOLERANTES A LA SEQUÍA MEDIANTE MARCADORES MORFOLÓGICOS Y MOLECULARES SSR”**.que presenta: **M.C. ELIZABETH IBARRA SÁNCHEZ**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. ANTONIO CASTILLO GUTIÉRREZ** y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
***Por una humanidad culta***  
*Una universidad de excelencia*

**DRA. MARÍA EUGENIA NÚÑEZ VALDEZ**  
**Comité Evaluador**

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209  
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 3304. fagropecuarias@uaem.mx





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**MARIA EUGENIA NUÑEZ VALDEZ** | Fecha:2020-11-13 14:29:16 | Firmante

nv96EIUNYe+mOtatZVHRxY9G37wrrFTXeoBo43McQFnaRBA+0SICJIB63w7g6wZblGg70oop0uOpnMTetOFRv1pAYVik6qU0FuXd8lcmk4rlku0jPrD7QVOtaxqtPHUzYdWnFBif  
tegsGX3HhoON+NPK94+7hh4gUhxz8LyRF2T6JQCyaOolvpX6Exz1eG2qQtv0HmrG+E9sACHPfvíCMFJRajGCrqhcKmpqzPIUfz6FJ7r2M+EwZLDw/bKB0YHlmT8/d1z0bke/H/no  
Lx7gngn2iAz+wO/jl0Jfajg2KNIJu2cQg/cvLDDAFJ4QyW4hkgubFmmubonw27HbYAwQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



20lzj9

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/3AVRAjEEed8GvkgPuqnpNshbgu8o7jHwo>





**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS**

---

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**SELECCIÓN DE LÍNEAS DE MAÍZ  
TOLERANTES A LA SEQUÍA MEDIANTE  
MARCADORES MORFOLÓGICOS Y MOLECULARES  
SSR**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y  
DESARROLLO RURAL**

**P R E S E N T A:**

**ELIZABETH IBARRA SÁNCHEZ**

**DIRECTOR DE TESIS:  
Dr. Antonio Castillo Gutiérrez**



**Cuernavaca, Morelos, Enero de 2021**

## SELECCIÓN DE LÍNEAS DE MAÍZ TOLERANTES A LA SEQUÍA MEDIANTE MARCADORES MORFOLÓGICOS Y MOLECULARES SSR

Tesis realizada por **Elizabeth Ibarra Sánchez**, bajo la dirección del Comité Revisor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

### DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL

#### COMITÉ REVISOR

Director de Tesis: \_\_\_\_\_

Dr. Antonio Castillo Gutiérrez

Revisor: \_\_\_\_\_

Dra. María Eugenia Núñez Valdez

Revisor: \_\_\_\_\_

Dr. Ramón Suárez Rodríguez

Revisor: \_\_\_\_\_

Dra. María Andrade Rodríguez

Revisor: \_\_\_\_\_

Dr. Oscar Gabriel Villegas Torres

Revisor: \_\_\_\_\_

Dr. Francisco Perdomo Roldán

Revisor: \_\_\_\_\_

Dr. Dagoberto Guillén Sánchez

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por la beca otorgada con el No. de becario **488387**, para realizar los estudios de doctorado en el periodo de agosto 2015 a julio del 2019.

A la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos por permitirme realizar mis estudios de Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural.

A la Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc, perteneciente a la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, por facilitarme las instalaciones de la Institución para llevar a cabo mis experimentos de campo y trabajo de laboratorio.

Al Dr. Antonio Castillo Gutiérrez, Director de este trabajo tesis, por su disposición, conocimientos, aportaciones y tiempo dedicado en la elaboración y realización de este trabajo. Aportaciones que fueron fundamentales para la terminación de mis estudios doctorales.

A la Dra. María Eugenia Núñez Valdez, le agradezco sobremanera por sus aportaciones y apoyo recibido durante mi estancia en el doctorado, además de la asesoría recibida de su persona en la ejecución de este trabajo de Investigación.

Al Dr. Ramón Suárez Rodríguez, por la asesoraría, comentarios y observaciones que permitieron el mejoramiento de este trabajo y por su gran apoyo durante los cuatro años de mi estancia doctoral.

Al Dr. Francisco Perdomo Roldán, por las observaciones y sugerencias realizadas a esta investigación.

A la Dra. María Andrade Rodríguez, le agradezco su colaboración y asesoría en la realización de este trabajo de Investigación.

Al Dr. Oscar Gabriel Villegas Torres, por su colaboración en las reuniones de comité, lo que contribuyó en el enriquecimiento de esta tesis.

Al Dr. Dagoberto Guillén Sánchez por su gran ayuda en la realización de este trabajo de Investigación.

## **DEDICATORIA**

### **A mis padres**

Por su amor, trabajo y comprensión en todos estos años, gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy. Y sobre todo a mi Padre, que ya no está con nosotros.

### **A mi esposo**

Porque ha estado a mi lado brindándome, confianza y apoyo incondicional, por ser un amigo y compañero inseparable, fuente de calma en todo momento, para seguir adelante y concluir con una etapa más de mi vida.

### **A mis hermanos y familiares**

Por ser una parte importante en mi vida, porque me han impulsado en los buenos momentos y en los menos afortunados, también a cada una de las personas que me guiaron y que han contribuido a mi formación como ser humano.

## CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iv
RESUMEN GENERAL.....	v
GENERAL ABSTRAC.....	vii
<b>CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL.....</b>	<b>1</b>
Hipótesis.....	4
Objetivos.....	4
<b>CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA GENERAL.....</b>	<b>6</b>
2.1. Daños de la sequía en la agricultura.....	6
2.2. Efecto de la sequía en la planta de maíz.....	7
2.3. Características que confieren tolerancia a sequía y criterios de selección.....	8
<b>CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES.....</b>	<b>11</b>
3.1. Germoplasma de Estudio.....	11
3.2. Evaluación Fenotípica del Germoplasma.....	11
3.2.1. Sitio de Evaluación.....	11
3.2.2. Descripción de Experimentos.....	12
3.2.3. Manejo Agronómico de los Experimentos.....	15
3.2.4. Diseño Experimental.....	16
3.2.5. Características de Respuesta.....	16
3.2.6. Análisis Estadístico.....	17
3.3. Evaluación Genotípica.....	22
3.3.1. Extracción de ADN.....	22
3.3.2. Determinación de la Calidad de ADN y Fotodocumentación.....	23
3.3.3. Determinación de concentración de ADN.....	23
3.3.4. Marcadores SSR.....	23
3.3.5. Amplificaciones de ADN por PCR.....	24
3.3.6. Fotodocumentación y análisis de geles.....	25
<b>CAPITULO IV. CARACTERIZACIÓN DE LA RESPUESTA A LA SEQUÍA DE LÍNEAS SEGREGANTES</b>	

<b>DE MAÍZ (<i>Zea mays</i> L.)</b> .....	27
4.1. Resumen.....	28
4.2. Summary.....	29
4.3. Introducción.....	30
4.4. Materiales y Métodos.....	34
4.5. Resultados y Discusión.....	37
4.6. Conclusiones.....	47
4.7. Literatura Citada.....	48
<b>CAPÍTULO V. ANÁLISIS DE LA VARIACIÓN Y ASOCIACIÓN</b>	
<b>ENTRE CARACTERES EN LÍNEAS S<sub>2</sub> DE MAÍZ</b>	
<b>EN RIEGO Y SEQUÍA</b> .....	53
5.1. Resumen.....	54
5.2. Abstrac.....	55
5.3. Introducción.....	56
5.4. Materiales y Métodos.....	59
5.5. Resultados y Discusión.....	62
5.6. Conclusiones.....	69
5.7. Literatura Citada.....	70
<b>CAPÍTULO VI. ASOCIACIÓN ENTRE LA EXPRESIÓN</b>	
<b>FENOTÍPICA Y EL PATRÓN ELECTROFORÉTICO</b>	
<b>DE MARCADORES SSR EN LÍNEAS</b>	
<b>SEGREGANTES S<sub>2</sub> DE MAÍZ EN SEQUÍA</b> .....	74
6.1. Resumen.....	75
6.2. Abstrac.....	76
6.3. Introducción.....	77
6.4. Materiales y Métodos.....	80
6.5. Resultados y Discusión.....	87
6.6. Conclusiones.....	97
6.7. Literatura Citada.....	98
<b>CAPITULO VII. BIBLIOGRAFIA GENERAL</b> .....	102

## ÍNDICE DE CUADROS

1. Experimentos de campo conducidos de 2016 a 2018 con 100 líneas endogámicas de maíz.....	12
2. Información de los marcadores SSR.....	25
4.1. Valores estadísticos de características morfológicas.....	38
4.2. Medias de las líneas de mayor y menor rendimiento de grano.....	39
4.3. Cuadrados medios del análisis de varianza de una vía.....	41
4.4. Líneas tolerantes y susceptibles seleccionadas por el ISS y el IT.....	42
4.5. Líneas segregantes de maíz de mayor y menor rendimiento.....	45
5.1. Análisis de varianza individual, considerando un modelo aleatorio.....	60
5.2. Cuadrados medios de siete características morfológicas.....	62
5.3. Promedios en variables críticas en Líneas de maíz, con mayor y menor rendimiento de grano en condiciones de sequía.....	64
5.4. Parámetros genéticos y coeficientes de variación genético-aditiva y fenotípica las líneas en riego.....	65
5.5. Parámetros genéticos y coeficientes de variación genético-aditiva y fenotípica las líneas en sequía.....	66
5.6. Correlaciones fenotípicas y genéticas.....	68
6.1. Información de los marcadores SSR.....	85
6.2. Cuadrados medios de siete características morfológicas.....	88
6.3. Promedio de las variables medidas en el ambiente de sequía.....	89
6.4. Promedio de las variables medidas en el ambiente de riego.....	91
6.5. Correlaciones fenotípicas entre las características medidas.....	92
6.6. Contrastes no ortogonales de las expresiones fenotípicas bajo sequía...	95

## ÍNDICE DE FIGURAS

1. Lectura de tensiómetros en los ambientes de evaluación.....	13
2. Porcentaje de humedad presente en el ambiente de sequía.....	14
3. Lecturas del tensiómetro y porcentaje de humedad del suelo.....	14
4. Temperaturas máximas y mínimas en el ciclo agrícola 2017/2018.....	15
5. Gel de agarosa mostrando la integridad de ADN.....	23
4.1. Regresión lineal entre el ISS con el RG bajo condiciones de sequía y de riego.....	44
5.1. Registro de los tensiómetros colocados en los ambientes de evaluación.....	63
6.1. Registro de los tensiómetros colocados en los ambientes de evaluación.....	82
6.2. Patrón de bandeo obtenido por el marcador bnlg1863.....	94

## RESUMEN GENERAL

En México, el cultivo de maíz se siembra principalmente bajo condiciones de temporal, lo que representa el 72.2 % del ciclo agrícola de primavera–verano, con un rendimiento promedio de 2.5 t·ha<sup>-1</sup>. La siembra de maíz en condiciones de temporal, implica un riesgo debido a las fluctuaciones en el periodo de lluvias y a la cantidad de precipitación; las que afectan negativamente la producción y el valor de las cosechas en la agricultura. Los objetivos de la presente investigación de tesis, fueron: *i)* seleccionar líneas S<sub>2</sub> tolerantes a la sequía en una población segregante, *ii)* Comparar el potencial agronómico entre líneas tolerantes y susceptibles usando siete características morfológicas, *iii)* Evaluar la asociación estadística entre patrones electroforéticos de marcadores SSR y la expresión fenotípica de marcadores morfológicos. La investigación estuvo conformada por dos estudios; el primero se centró en la evaluación de 96 líneas S<sub>2</sub> segregantes, dos líneas testigo y dos líneas no seleccionadas para sequía. Las líneas se evaluaron en riego y sequía inducida, usando un diseño Látxice Alfa con cuatro repeticiones, en Ayala, Morelos, México. Se midieron 10 variables morfológicas y se estimaron los índices de susceptibilidad a la sequía (ISS) y el índice de tolerancia a sequía (IT). Con base en el rendimiento de grano en riego (3.14 t ha<sup>-1</sup>), se determinó una reducción del 77.7 % del rendimiento en sequía (0.70 t ha<sup>-1</sup>). Los índices ISS e IT identificaron a las líneas LUM69, LUM82 y LUM30 como tolerantes a sequía, solo LUM69 mostró un rendimiento sobresaliente en ambos ambientes. Los índices de ISS e IT como criterio para identificar genotipos tolerantes, no resultaron ser útiles para seleccionar líneas alto rendimiento de grano bajo condiciones de riego, por lo que, para seleccionar genotipos con tolerancia a sequía, se debe considerar el promedio de rendimiento a través de los ambientes de riego y sequía. El segundo estudio, consistió en evaluar en riego y sequía inducida a un grupo de 28 líneas segregantes (14 seleccionadas por su tolerancia y 14 por su susceptibilidad a la sequía), los progenitores y dos testigos, en Ayala, Morelos, México. En este estudio se registraron siete variables morfológicas. Los resultados entre el grupo de líneas tolerantes y susceptibles, en la variable de rendimiento de grano, indicaron que, en el ambiente de riego, las líneas tolerantes superaron en 20.5 % al

rendimiento de las líneas susceptibles, y en un 89.7 % en el ambiente de sequía. La estimación de la varianza genético-aditiva para rendimiento de grano, fue ligeramente menor (4.7%) en el ambiente de sequía, que en ambiente de riego. En cuanto a la correlación entre variables, el valor negativo que mostró el intervalo antesis-emergencia de estigmas (ASI) y el rendimiento, indicó que entre más corto es el ASI mayor será el RG en las líneas segregantes. Con base en los datos del segundo estudio, se seleccionaron 10 líneas tolerantes y 10 líneas susceptibles, para reanalizar los datos, junto con los datos de los progenitores y testigos. Las características consideradas en los análisis fueron: floración masculina, floración femenina, intervalo antesis-emergencia de estigmas, altura de planta y mazorca, peso de 100 granos y rendimiento de grano. Los datos se procesaron mediante análisis de varianza, comparación de medias, análisis de correlación y contrastes no ortogonales. Se probaron 16 marcadores SSR para identificar polimorfismo entre los progenitores, identificando al marcador bnlg1863 como polimórfico; por lo que, se realizó el genotipo de las 20 líneas con dicho marcador, determinando que cinco líneas mostraron el patrón electroforético del progenitor tolerante, 14 líneas con el patrón de progenitor susceptible y una que mostró ser heterocigota para este locus. Los análisis de varianza detectaron alta variación fenotípica en las siete características medidas. Las líneas que en el ambiente de sequía se identificaron como susceptibles, presentaron una disminución del rendimiento de grano del 81.5 %, con respecto a las líneas tolerantes. En condiciones de sequía, se obtuvo una correlación intermedia y altamente significativa del rendimiento de grano con la floración femenina (-0.65\*\*). El patrón electroforético generado por el marcador bnlg1863, reveló asociación altamente significativa con el rendimiento de grano y con la floración femenina de las líneas segregantes contrastantes en respuesta a la sequía.

## GENERAL SUMMARY

In Mexico, the maize crop is sown mainly under rainfall conditions, representing 72.2% of the spring-summer agricultural cycle, with an average yield of 2.5 to  $\text{ha}^{-1}$ . Cultivating maize under rainfall conditions implies a risk due to fluctuations in the rainy season and the amount of precipitation; which affect negatively the crop production and value in agriculture. The objectives of this thesis research were to: (i) select drought-tolerant  $S_2$  lines in a segregating population, (ii) compare the agronomic potential between tolerant and susceptible lines using seven morphological characteristics, (iii) evaluate the statistical association between electrophoretic patterns of SSR markers and the phenotypic expression of morphological markers. The research consisted of two studies; the first focused on the evaluation of 96 segregating  $S_2$  lines, two control lines and two non-select lines for drought. The lines were evaluated under irrigation and induced drought, using an Alpha Lattice design with four replications, in Ayala, Morelos, Mexico. Ten morphological variables were measured and the indexes of drought susceptibility (ISS) and drought tolerance (IT) were estimated. Based on irrigation grain yield ( $3.14 \text{ t ha}^{-1}$ ), a 77.7% reduction in drought yield ( $0.70 \text{ t ha}^{-1}$ ) was determined. The ISS and IT indexes identified the LUM69, LUM82 and LUM30 lines as drought tolerant, only LUM69 showed outstanding performance in both environments. ISS and IT indexes as a criterion for identifying tolerant genotypes did not prove useful for selecting high grain yield lines under irrigation conditions, therefore selecting drought-tolerant genotypes should consider average performance across irrigation and drought environments. The second study consisted of assessing in irrigation and drought induced a group of 28 segregating lines (14 selected for their tolerance and 14 for their susceptibility to drought), parents and two controls, in Ayala, Morelos, Mexico. Seven morphological variables were recorded in this study. The results among the group of tolerant and susceptible lines, in the grain yield variable, indicated that, in the irrigation environment, the tolerant lines exceeded by 20.5% the yield of the susceptible lines, and by 89.7% in the drought environment. The estimate of genetic-additive variance for grain yield was slightly (4.7%) less in the drought environment than in an irrigation

environment. As for the correlation between variables, the negative value that showed the anthesis-silking interval (ASI) and grain yield, indicated that the shorter the ASI the greater the RG on the segregating lines. Based on data from the second study, 10 tolerant lines and 10 susceptible lines were selected to re-analyze the data, along with data from parents and controls. The characteristics considered in the analyses were: male flowering, female flowering, anthesis-silking interval, plant and ear height, 100-kernel weight and grain yield. The data was processed using variance analysis, mean comparison, correlation analysis, and non-orthogonal contrasts. 16 SSR markers were tested to identify polymorphism between parents, identifying the bnlg1863 marker as polymorphic; therefore, the genotyping of the 20 lines was performed with this marker, determining that five lines showed the electrophoretic pattern of the tolerant parent, 14 lines with the susceptible parent pattern and one that showed to be heterozygote for this locus. Variance analyses detected high phenotypic variation in the seven measured characteristics. The lines that in the drought environment were identified as susceptible, had a decrease in grain yield of 81.5%, compared to tolerant lines. In drought conditions, an intermediate and highly significant correlation of grain yield was obtained with female flowering (-0.65\*\*). The electrophoretic pattern generated by marker bnlg1863 revealed a highly significant association with grain yield and female flowering of contrasting segregating lines in response to drought.

# CAPITULO I

## INTRODUCCIÓN GENERAL

El maíz, es un grano básico para la alimentación humana, pero también se utiliza como materia prima para la industria; en los últimos cinco años el maíz fue el cereal de mayor producción a nivel mundial con 1068 millones de toneladas, lo que posicionó a esta especie como un cultivo esencial en la seguridad alimentaria mundial. En 2017, los tres principales países productores de este grano fueron Estados Unidos de América con 32.7%, China con 22.8% y Brasil con 8.6%, en tanto que México en ese año se posesionó en el octavo lugar con 2.4% (FAOSTAT, 2019).

En México, la producción de maíz en 2017 fue de 28 millones de toneladas, registrando una disminución del 3.8% con respecto al año 2018; el rendimiento promedio de ese año fue de 3.8 t·ha<sup>-1</sup>. A nivel nacional, la mayor superficie sembrada es bajo condiciones de temporal, lo que representa el 72.2 % del ciclo agrícola de primavera-verano, obteniendo un rendimiento promedio de 2.5 t·ha<sup>-1</sup> (SIAP, 2019). El hecho de que la mayor superficie de siembra sea en condiciones de temporal, implica inestabilidad del rendimiento, debido las fluctuaciones aleatorias de factores climáticos y a la ocurrencia eventos extremos aleatorios como sequías, heladas e inundaciones, las que afectan negativamente el volumen y el valor de la producción de maíz y en los cultivos en general (SAGARPA, 2012).

La sequía es un fenómeno climático que varía con el tiempo y el sitio geográfico, y se presenta cuando ocurre un déficit en la precipitación media esperada regional y por un período suficientemente prolongado de tiempo (Nunccio *et al.*, 2018; Yihdego *et al.*, 2019). La complejidad del fenómeno condiciona que no exista una definición estándar aceptada a nivel mundial para la sequía. Particularmente, se asocia con la falta de lluvia, carencia de humedad del suelo, disminución de reservas en embalses y acuíferos. La complejidad del impacto de la sequía se incrementa a medida que

aumenta la escasez de precipitaciones (IMTA, 2014). En la agricultura, la palabra “sequía” hace referencia a la condición meteorológica en la cual la disponibilidad y la cantidad de agua de lluvia y/o del riego es insuficiente para cumplir las necesidades de los cultivos para un crecimiento y desarrollo óptimo (Pervez, 2019).

La sequía es una importante condición abiótica que limita la producción de los cultivos en la agricultura mundial, en el periodo de 2006 a 2016, la sequía afectó al sector agrícola mundial de manera importante, en relación con otros sectores, reportando un nivel de daño del orden del 83 % (FAO, 2018).

Se han logrado avances para determinar los procesos morfológicos, fisiológicos y bioquímicos que son esenciales para entender la capacidad competitiva de las plantas para sobrevivir en diferentes entornos de estrés (Chaves *et al.*, 2003). El cultivo de maíz es muy susceptible a los efectos negativos del estrés por sequía, especialmente poco antes y durante la floración. En la planta de maíz, se expresan una serie de mecanismos de defensa contra el estrés por sequía, para asegurar la supervivencia, aunque la respuesta depende de que el genotipo posea genes para tolerancia. Sin embargo, los efectos más comunes son disminuir la tasa de crecimiento, el alargamiento significativo del periodo del intervalo antesis-estigmas (ASI), reducción del número de mazorcas por planta y el número de granos por mazorca, por lo que consecuentemente el rendimiento del grano final se reduce; y en casos severos se producen plantas cuyas mazorcas no producen grano, lo que comúnmente se les denomina plantas “jorras” (Hao *et al.*, 2011).

El maíz tiene una alta adaptabilidad, lo que le permite cultivarse en muy diversas condiciones ambientales (Rocandio *et al.*, 2014); no obstante, para desarrollar o incrementar tolerancia a la sequía se realiza fitomejoramiento, con la finalidad de estabilizar o incrementar los rendimientos bajo condiciones de escases de humedad (Fischer *et al.*, 1984). Por otro lado, conducir un programa de mejoramiento genético para tolerancia a la sequía y lograr avances significativos en el rendimiento, no es fácil, debido a que el rendimiento de grano es un carácter de control poligénico, con alta

interacción genotipo x ambiente y baja heredabilidad en ambientes de sequía. Por lo tanto, las estrategias actuales para mitigar los efectos a este factor de tensión vegetal, incluyen el desarrollo de germoplasma de maíz con tolerancia a la sequía, combinando diferentes métodos del fitomejoramiento convencional y técnicas biotecnológicas (Bruce *et al.*, 2001). La selección de germoplasma de maíz tolerante a la sequía, se ha realizado evaluando el germoplasma en déficit hídrico, sin embargo, la dificultad de inducir sequía controlada en experimentos de campo, provoca que la selección directa del rendimiento de grano sea ineficiente, debido a la baja heredabilidad de este carácter en ambientes de sequía (Blum 1988; Ribaut *et al.*, 1996).

El setenta por ciento del agua dulce del mundo, se utiliza en la agricultura, y aproximadamente el 86% ocurre en países en desarrollo. Por otro lado, la variación del clima como resultado del cambio climático, tiene importantes implicaciones para el abastecimiento mundial de alimentos. Debido a esto tanto las técnicas de mejoramiento genético convencional y la biotecnología se convierten en importantes instrumentos para generar variedades de cultivos, que hagan un uso más eficiente del agua (DTMA, 2015; Edmeades, 2013).

En la actualidad, el uso de marcadores moleculares de ADN en plantas, ha permitido construir mapas de ligamiento genético en el cultivo de maíz, lo que ha facilitado la localización de loci que controlan características cuantitativas (QTL's—acrónimo en inglés) localizados en regiones cromosómicas específicas (Bänziger *et al.*, 2000; Tardieu y Welcker, 2009); como es el caso de las regiones localizadas en los cromosomas uno, cinco y ocho, los cuales contienen QTL's que controlan el intervalo antesis-emergencia de estigmas (ASI) y el rendimiento de grano (Agrama y Moussa, 1996; Ribaut *et al.*, 1996; Sari-Gorla *et al.*, 1999). Por lo que, las investigaciones relacionadas con la selección de germoplasma para tolerancia a la sequía, usando técnicas biotecnológicas y convencionales están suficientemente justificadas. La presente investigación de tesis se fundamentó en las siguientes hipótesis.

## **HIPÓTESIS**

1. En condiciones de sequía, es factible poder identificar líneas segregantes que muestren herencia transgresiva, en las características de intervalo antesis emergencia de estigmas (ASI), peso de 100 granos (P100G) y rendimiento de grano (RG).
2. En condiciones de sequía será posible diferenciar estadísticamente dos grupos de líneas S<sub>2</sub> contrastantes en respuesta a la sequía, para la característica del rendimiento de grano.
3. Con base en los dos grupos de líneas (tolerantes y susceptibles a sequia), es viable asociar el patrón electroforético de algunos marcadores SSR.

## **OBJETIVOS**

### **GENERAL**

Seleccionar líneas S<sub>2</sub> tolerantes a la sequía derivadas de una población segregante de maíz, formada por el cruzamiento de una línea tolerante por una susceptible; las cuales poseen diferente origen genético y geográfico, además de provenir de distintos programas de fitomejoramiento; mediante el uso de marcadores morfológicos y moleculares de ADN, tipo de secuencia simple repetida (SSR).

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Medir la respuesta agronómica en ambientes de riego y sequía inducida de un grupo de 96 líneas S<sub>2</sub> segregantes de maíz, a través de diez características cuantitativas.
2. Seleccionar líneas tolerantes a la sequía, mediante los índices de tolerancia (IT), de susceptibilidad a la sequía (ISS) y el promedio combinado de los ambientes de riego y sequía.
3. Comparar el potencial agronómico de líneas tolerantes y susceptibles en riego y sequía, por medio de siete características morfológicas.
4. Estimar el grado de variación genética y fenotípica en las líneas S<sub>2</sub> segregantes de maíz, por medio del cálculo de parámetros genéticos en siete variables morfológicas.
5. Cuantificar el grado de correlación genética y fenotípica entre el rendimiento de grano y seis variables morfológicas de estudio.
6. Determinar la presencia de diferencias estadísticas entre expresiones fenotípicas extremas para las variables de rendimiento de grano, peso de 100 granos e intervalo anthesis-emergencia de estigmas.
7. Evaluar la asociación estadística entre patrones electroforéticos de marcadores SSR y la expresión fenotípica de marcadores morfológicos.

## CAPITULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA GENERAL

#### 2.1. Daños de la Sequía en la Agricultura

La sequía es un fenómeno que ocurre de manera natural, que se distingue por una disminución en la precipitación pluvial con respecto a la considerada como normal, no presenta un origen ni trayectoria definida, pero tiende a extenderse de manera irregular a través del tiempo y espacio (Mishra y Singh, 2010; Ortega, 2013). No obstante, existen diferentes tipos de sequía como; la meteorológica, agrícola, hidrológica y socioeconómica. La complejidad del fenómeno de la sequía condiciona que no existe una clara definición general aceptada. Particularmente, la sequía agrícola es la insuficiente humedad del suelo para satisfacer las necesidades de crecimiento de un cultivo, en cualquier etapa fenológica (IMTA, 2014; Mukherjee, *et al.*, 2018). La sequía afecta a muchos sectores como la agricultura, ganadería, silvicultura, energía, industria y agua. En consecuencia, cualquier cambio en los sistemas hidrológicos, como los causados por la sequía, es un riesgo importante para la sociedad (IMTA, 2014).

En los últimos años se han desarrollado técnicas para precisar y cuantificar el efecto de la sequía, que incluyen la intensidad, la duración, la gravedad y la extensión espacial, a estas técnicas se les llaman indicadores e índices de sequía. Los indicadores de sequía es la escala de una variable como la precipitación, la temperatura, los niveles de agua subterránea, los niveles de reserva, las bolas de nieve, los niveles de humedad del suelo, que proporciona una premisa del potencial estrés o deficiencia relacionado con la sequía. El índice de sequía, es un método para derivar información "valuada" vinculada a la sequía mediante la comparación de las condiciones actuales con la información histórica (Mukherjee *et al.*, 2018; Yihdego *et al.*, 2019).

Actualmente, la presencia e impacto de la sequía en la agricultura, ocurren en los diferentes continentes del mundo, por lo que, la sequía es uno de los factores climáticos que más pérdidas económicas ocasiona cada año (Quesada-Montano *et al.*, 2018). En México, la presencia de sequía en las últimas décadas, ha causado desajustes en la economía regional y nacional, como ocurrió durante la sequía de 2011-2012, la que se considera la más severa de los últimos 70 años, debido a que generó pérdidas económicas en la producción agrícola, que superaron los 16 mil millones de pesos. Se estima que las pérdidas totales provocadas por esta sequía, en los diferentes sectores económicos, equivalen a 10% del producto interno bruto nacional, y se calcula que alrededor de 48 millones de mexicanos padecieron las consecuencias del fenómeno en zonas áridas, semiáridas y subhúmedas secas, siendo un problema que afectó a dos de cada tres hectáreas cultivadas ocasionando la muerte de miles de cabezas de ganado (INEGI, 2013).

## **2.2. Efecto de la Sequía en la Planta de Maíz**

El requerimiento de agua en los tejidos en las diferentes etapas fenológicas de la planta de maíz es variable, en las primeras etapas el requerimiento de agua es bajo, mientras que en la etapa de floración y llenado de grano se incrementa la demanda de agua, y durante la etapa de madurez fisiológica el requerimiento de agua disminuye. El maíz requiere aproximadamente de 450 a 600 mm de agua durante el ciclo del cultivo (Du Plessis, 2003); aun cuando este cereal tiene una alta adaptabilidad para cultivarse en diferentes condiciones ambientales (Rocandio *et al.*, 2014). Sin embargo, la interacción con factores climáticos limita la producción de grano, principalmente la sequía (Xue *et al.*, 2013). El impacto en el rendimiento de maíz, dependerá de la severidad y duración del déficit hídrico, así como de la etapa fenológica en la que se encuentre el cultivo (Wilhite, 2000).

En general, la falta de humedad en las plantas induce cambios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos (Mendoza, 2012). Entre los cambios observados por sequía

en las plantas de maíz son el cambio de color verde a gris verdoso, el enrollamiento de las hojas, la senescencia de las hojas en la parte basal de la planta (Edmaedes, 2013). Sin embargo, son muchos los efectos que causa la sequía en las plantas de maíz, a través de las diferentes etapas fenológicas, de manera que, si la sequía ocurre en el establecimiento del cultivo, se afecta la germinación de semillas, reduciendo la densidad poblacional de plantas (Bänziger *et al.*, 2012). Por otro lado, las hojas como respuesta a la sequía, pueden cambiar el ángulo de inclinación o se enrollan reduciendo la expansión de las hojas. La falta de agua en un periodo de 7 a 10 días antes de la floración, provoca que la tasa de crecimiento del jilote sea menor que el de la espiga, produciendo un retraso en la emergencia de estigmas y que no haya coincidencia con la liberación de polen (ASI), y de persistir la escasez de agua por un periodo de aproximadamente 20 días, después de la emisión de estigmas, se afectará drásticamente el rendimiento de grano (Aslam *et al.*, 2015; Bänziger *et al.*, 2012; Vinocur y Altam, 2005).

En las plantas, la percepción del estrés abiótico y las señales de transducción para generar respuestas adaptativas específicas, son pasos críticos para la supervivencia y reproducción vegetal en ambientes adversos (Chinnusamy *et al.*, 2004); por lo que, comprender las respuestas bioquímicas y moleculares a la sequía, es fundamental para inducir los mecanismos de adaptación de las plantas a condiciones limitantes de humedad. En los tejidos vegetales expuestos a sequía, se generan diversos solutos como respuesta de sobrevivencia (Attipalli *et al.*, 2004). El estrés hídrico por sequía disminuye progresivamente la tasa de asimilación de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) como una consecuencia del cierre de estomas.

### **2.3. Características que Confieren Tolerancia a Sequía y Criterios de Selección**

El tipo de polinización en el maíz y los criterios de selección aplicados por los productores de maíz, a través de los años en diferentes ambientes, han generado una alta variabilidad genética en esta especie. La sequía como otros factores ambientales

reducen significativamente los rendimientos de maíz (Ribaut *et al.*, 2009), razón por la que los investigadores han desarrollado estrategias de mejoramiento convencional para seleccionar germoplasma de maíz con tolerancia a la sequía.

El efecto de la selección incide directamente en las frecuencias génicas de la población, por lo que las varianzas experimentan cambios que dependen del tipo de acción génica predominante (Vargas *et al.*, 1982). Realizar mejoramiento genético para tolerancia a la sequía es complejo, debido a que el rendimiento es un carácter de herencia poligénica y de alta interacción con el ambiente. Por lo que, para tener un mayor avance genético, se han desarrollado y aplicado diferentes índices de selección y de cuantificación de la tolerancia o susceptibilidad a la sequía en germoplasma bajo mejoramiento; así mismo, se ha sugerido usar caracteres secundarios relacionados al rendimiento y que mantienen alta heredabilidad bajo sequía, tales como el intervalo anthesis-emergencia de estigmas y peso de semillas (Fischer y Maurer, 1978; Guei y Wassom, 1992). La selección masal visual estratificada (SMVE) y la selección de familias de medios hermanos (FMH) y hermanos completos (FHC), han sido efectivas para mejorar el rendimiento de grano en maíz para condiciones de sequía.

Una técnica alternativa para seleccionar germoplasma tolerante a sequía, es el uso de marcadores genéticos, como: i) morfológicos, ii) bioquímicos y iii) moleculares. Los marcadores morfológicos y bioquímicos presentan alta interacción con el ambiente, en tanto que, los moleculares no muestran interacción genotipo-ambiente (Winter y Kahl, 1995). Los marcadores moleculares de ADN, son secuencias con ubicación física específica en un cromosoma y se heredan en forma mendeliana. Los primeros marcadores se desarrollaron a finales de los 70 basándose en la identificación de izoenzimas, lo que facilitó el estudio de la estructura y heterogeneidad genética entre diferentes especies, variedades y poblaciones de distinto origen geográfico (Collard *et al.*, 2005). La utilidad de los marcadores genéticos, se fundamenta en la detección de diferencias entre individuos de la misma o diferentes especies y en su polimorfismo dentro de una población, de manera que los marcadores monomórficos no discriminan

diferencias entre genotipos. De igual forma, existen marcadores codominantes que diferencian genotipos homocigotos de heterocigotos.

## **CAPÍTULO III**

### **MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES**

#### **3.1. Germoplasma de Estudio**

La población de estudio estuvo formada por 96 líneas S<sub>2</sub> segregantes de maíz, desarrolladas por el cruzamiento de las líneas endogámicas Ac7643 (tolerante a sequía) y B39 (susceptible a sequía), así como dos líneas testigos Ac7729 y T-43. En total se evaluaron 100 genotipos. Las líneas endogámicas Ac7643 y Ac7729 fueron proporcionadas por el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) y las líneas B39 y T-43 por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

#### **3.2. Evaluación Fenotípica del Germoplasma**

La caracterización fenotípica del grupo de líneas se realizó en experimentos de campo, los que se condujeron en riego y en sequía inducida, con el propósito de cuantificar la respuesta del germoplasma de estudio a dichas condiciones ambientales.

##### **3.2.1. Sitio de Evaluación**

Los experimentos de evaluación, se establecieron en el campo experimental de la Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc, dependiente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, localizada en el municipio de Ayala, Morelos. El sitio de evaluación, se caracteriza por presentar un clima Cálido Sub-húmedo, tipo de suelo

vertisol, con una altitud de 1285 m, un rango de temperaturas que va desde los 8.4 a 36.0 °C y una precipitación media anual de 912 mm (INEGI, 2017).

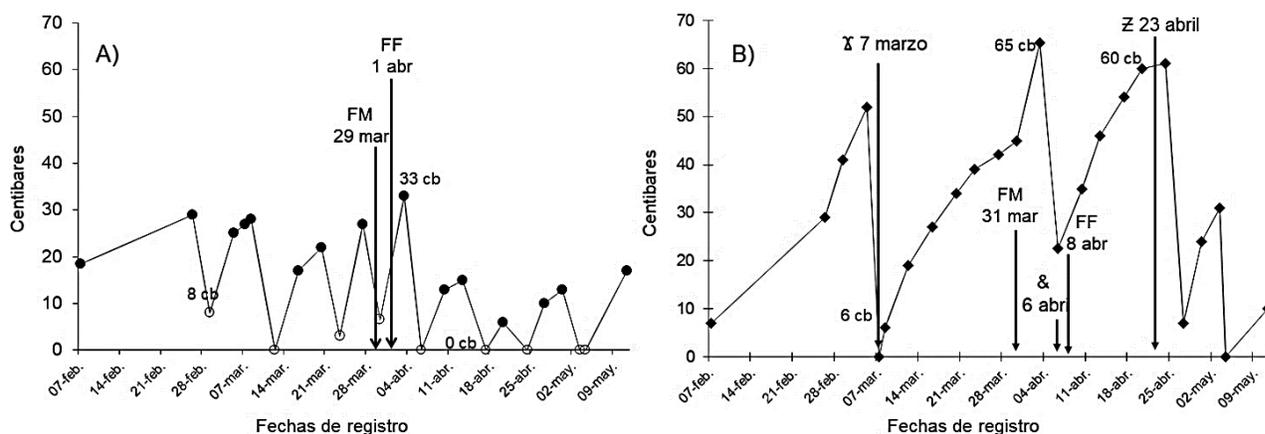
### 3.2.2. Descripción de Experimentos

Los experimentos de campo que generaron los datos de variables morfológicas, permitieron fenotipar la respuesta de las líneas segregantes a las dos condiciones de humedad, la descripción de los experimentos realizados de 2016 a 2018, se describen en el Cuadro 1:

**Cuadro 1.** Experimentos de campo conducidos de 2016 a 2018 con 100 líneas endogámicas de maíz, en el Campo Experimental de la Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc.

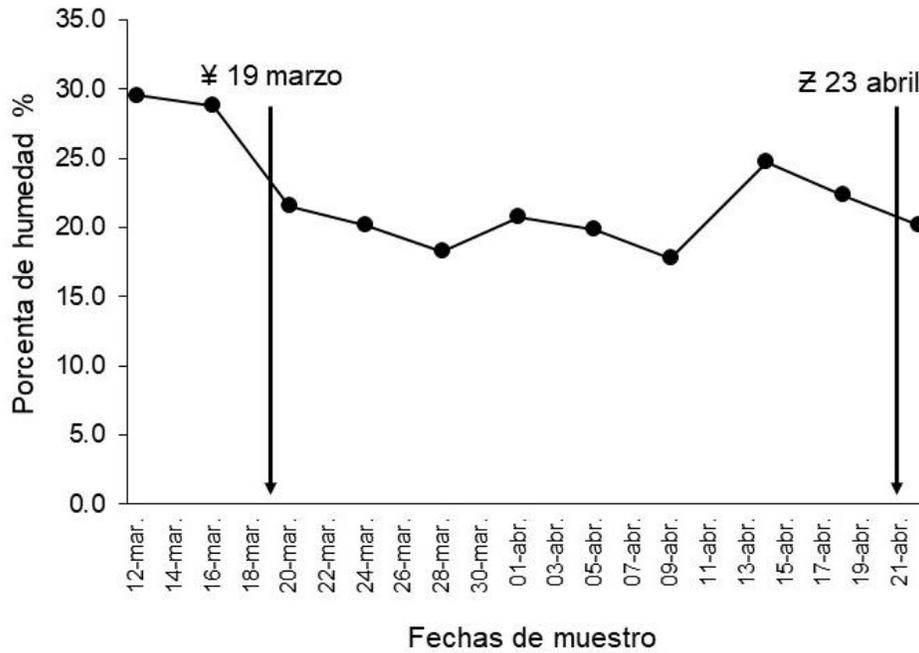
<b>Experimento</b>	<b>No. Líneas/Progenitores/ Testigos</b>	<b>Ciclo agrícola</b>	<b>Propósito</b>
I	96 / 2 / 2	Primavera–verano 2016.	Conocer el comportamiento agronómico del grupo de líneas en su respuesta a la condición de riego.
II	96 / 2 / 2	Otoño–invierno 2016/2017.	Conocer el comportamiento agronómico del grupo de líneas en su respuesta a la condición de sequía.
III	28 / 2 / 2	Otoño–invierno 2017/2018.	Confirmar la respuesta de líneas clasificadas como tolerantes y susceptibles a la condición de riego.
IV	28 / 2 / 2	Otoño–invierno 2017/2018.	Confirmar la respuesta a la condición de sequía inducida, de líneas clasificadas como tolerantes y susceptibles al déficit hídrico.

Con el propósito de monitorear el nivel de humedad en el suelo, se instalaron tensiómetros en los experimentos III y IV, dos tensiómetros en el experimento de riego y dos en el de sequía inducida. Los resultados de las lecturas registradas durante las evaluaciones se muestran en la Figura 1. Por otro lado, se realizaron muestreos en el experimento IV, durante el periodo de sequía inducida para determinar la humedad por el método gravimétrico (Figura 2). En la Figura 3. Se muestra los datos registrados a través del tensiómetro y los porcentajes de humedad recabados por los muestreos de suelo.

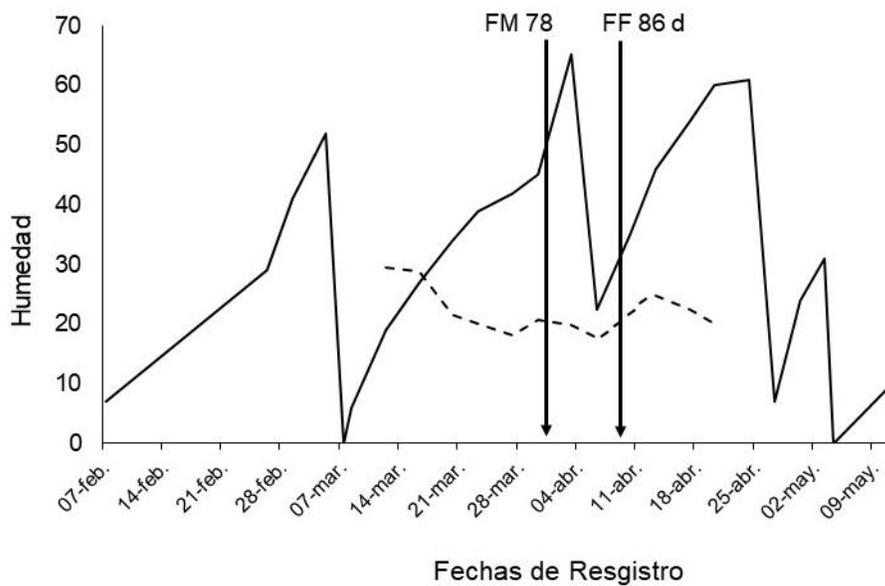


**Figura 1.** Lecturas de los tensiómetros del ambiente de riego (A) y sequía (B). Fecha del promedio de floración masculina (FM), fecha del promedio de floración femenina (FF), fecha de inicio de sequía (X), fecha de la aplicación de medio riego (&), y fecha de reanudación de riego (Z).

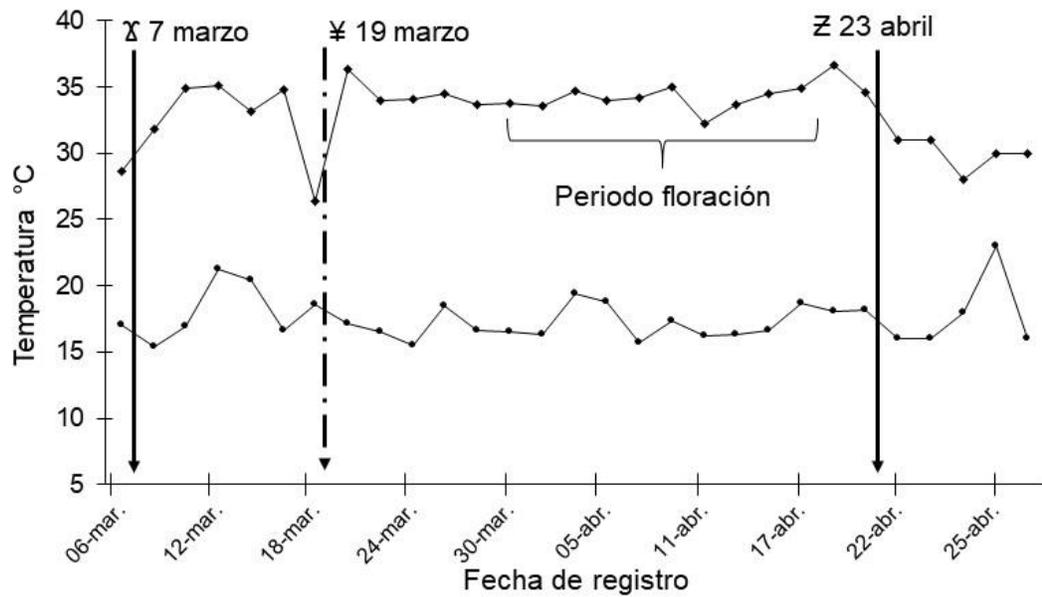
En los experimentos III y IV, se registraron cada seis días las temperaturas máximas y mínimas del aire, durante el ciclo de cultivo del maíz (Figura 4).



**Figura 2.** Porcentaje de humedad presente en el ambiente de sequía inducida. Fecha de inicio de sequía (¥), fecha de reanudación del riego (Z).



**Figura 3.** Lecturas de tensiómetros y porcentaje de humedad del suelo. Promedio de días a floración masculina (FM), Promedio de días a floración femenina (FF).



**Figura 4.** Temperaturas máximas y mínimas del ciclo agrícola 2017/2018. Fecha del último riego (X), fecha del inicio de sequía (Y), fecha de reanudación del riego (Z).

### 3.2.3. Manejo Agronómico de los Experimentos

La preparación del suelo en los experimentos de campo, se realizó con un barbecho, un rastreo y surcado de 0.75 m. La siembra se realizó de manera manual, depositando dos semillas cada 0.20 m, posteriormente se hizo un aclareo cuando las plantas se encontraban en la etapa fenológica V3. La dosis de fertilización fue 170-70-00 en dos aplicaciones, la primera al momento de la siembra con una dosis de 100-70-00, y la segunda en la etapa fenológica V6, suministrando el resto del nitrógeno (Ritchie *et al.*, 1992). La conducción agronómica de los experimentos, se llevó a cabo con base a las recomendaciones de la guía técnica para el cultivo de maíz del Campo Experimental de Zacatepec, Morelos del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) [Trujillo, 2002].

### 3.2.4. Diseño Experimental

En la evaluación que incluyó 100 genotipos se utilizó el diseño experimental de Lattice Alfa, en tanto que para los experimentos III y IV donde se evaluaron 32 genotipos, se usó el diseño de Bloques Completos al Azar. En todos los experimentos se utilizaron cuatro repeticiones por entrada, con un tamaño de la unidad experimental de un surco por línea. La totalidad de los experimentos de campo se establecieron en surcos de 0.75 m de ancho, con longitud de 4 m, y a una distancia entre plantas de 0.20 m, lo que permitió establecer una densidad poblacional de 66,500 plantas ha<sup>-1</sup>.

### 3.2.5. Características de Respuesta

Las características medidas en los experimentos fueron: floración masculina (FM), floración femenina (FF), intervalo anthesis-emergencia de estigmas (IAE), altura de planta (AP), altura de mazorca (AM), longitud de mazorca (LM), diámetro de mazorca (DM), número de hileras por mazorca (HM), peso de 100 granos (P100G), y rendimiento de grano (RG). Además se determinaron dos índices para evaluar la respuesta a la sequía del germoplasma. Uno de los índices fue el de susceptibilidad a la sequía (ISS) [Fischer y Maurer, 1978] y el otro fue el índice de tolerancia (IT) [Rosielle y Hamblin, 1981]. El ISS se estimó mediante la ecuación siguiente:

$$ISS = 1 - [Y_s / Y_r] / 1 - [Y_{sm} / Y_{rm}]$$

Donde:

$Y_s$  = promedio del rendimiento de una línea en el ambiente de sequía.

$Y_r$  = promedio del rendimiento de una línea en el ambiente de riego.

$Y_{sm}$  = promedio del rendimiento de todas las líneas en el ambiente de sequía.

$Y_{rm}$  = promedio del rendimiento de todas las líneas en el ambiente de riego.

En el ISS los valores menores a uno, indican relativa tolerancia a la sequía de los genotipos.

En cuanto al cálculo del IT, se realizó utilizando la siguiente ecuación:

$$IT = Y_1 - Y_2$$

Donde:

$Y_1$  = rendimiento de grano de una línea en el ambiente de riego.

$Y_2$  = rendimiento de grano de una línea en el ambiente de sequía.

En el IT, los valores relativamente más bajos indican que un genotipo es tolerante a la sequía.

Los valores de ambos índices se calcularon para cada genotipo y cada repetición, lo que permitió realizar un análisis de varianza de una vía, para posteriormente realizar una prueba de comparación de medias, por medio de una prueba  $DMS_{(0.05)}$ . La totalidad de los análisis estadísticos se realizaron usando el software Statistical Analysis System (SAS, 2009).

### 3.2.6. Análisis Estadístico

Los datos de las características evaluadas, se estudiaron mediante análisis de varianza (ANOVA) individual (riego o sequía) y combinado (riego y sequía).

El siguiente modelo lineal estadístico corresponde a un ANOVA individual bajo el diseño de Látice Alfa:

$$Y_{ijk} = \mu + R_j + B(R)_{k(j)} + L_i + e_{ij}$$

**Donde:**

$i = 1, 2, \dots, f$  (líneas)

$j = 1, 2, \dots, r$  (repeticiones)

$k = 1, 2, \dots, b$  (bloques)

$Y_{ijk}$  = observación de la  $i$ -ésima línea, en la  $j$ -ésima repetición y el  $k$ -ésimo bloque.

$\mu$  = media general.

$L_i$  = efecto de la  $i$ -ésima línea.

$R_j$  = efecto de la  $j$ -ésima repetición.

$B(R)_{k(j)}$  = efecto del  $k$ -ésimo bloque anidado en la  $j$ -ésima repetición.

$e_{ijk}$  = efecto aleatorio del error en la unidad experimental de la  $i$ -ésima línea, de la  $j$ -ésima repetición y en el  $k$ -ésimo bloque.

En tanto que el siguiente modelo lineal corresponde a un ANOVA combinado para un diseño experimental de Látice Alfa:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_l + R(A)_{j(l)} + B(R^*A)_{k(jl)} + L_i + L^*A_{il} + e_{ikjl}$$

**Donde:**

$i = 1, 2, \dots, f$  (líneas)

$j = 1, 2, \dots, r$  (repeticiones)

$k = 1, 2, \dots, b$  (bloques)

$l = 1, 2, \dots, a$  (ambientes)

$Y_{ijkl}$  = observación del  $i$ -ésima línea, en el  $k$ -ésimo bloque de la  $j$ -ésima repetición del  $l$ -ésimo ambiente.

$\mu$  = media general.

$A_l$  = efecto del  $l$ -ésimo ambiente.

$R(A)_{j(l)}$  = efecto de la  $j$ -ésima repetición en el  $l$ -ésimo ambiente.

$B(R^*A)_{k(jl)}$  = efecto del  $k$ -ésimo bloque de la  $j$ -ésima repetición y  $l$ -ésimo ambiente.

$L_i$  = efecto del  $i$ -ésima línea.

$L^*A_{ij}$  = efecto de la interacción de la  $i$ -ésima línea con el  $j$ -ésimo ambiente.

$e_{ikjl}$  = efecto aleatorio del error ocurrido en la unidad experimental de la  $i$ -ésima línea, en la  $j$ -ésima repetición,  $k$ -ésimo bloque y  $l$ -ésimo ambiente.

El siguiente modelo lineal estadístico corresponde a un ANOVA individual bajo el diseño de bloques completos al azar:

$$Y_{ij} = \mu + L_i + R_j + e_{ij}$$

**Donde:**

$i = 1, 2, \dots, \ell$  (líneas)

$j = 1, 2, \dots, r$  (repeticiones)

$Y_{ij}$  = observación de la  $i$ -ésima línea, en la  $j$ -ésimo repetición.

$\mu$  = media general.

$L_i$  = efecto de la  $i$ -ésima línea.

$R_j$  = efecto de la  $j$ -ésima repetición.

$e_{ij}$  = efecto aleatorio del error ocurrido en la unidad experimental de la  $i$ -ésima línea, en la  $j$ -ésima repetición.

El siguiente modelo lineal estadístico, corresponde a un ANOVA combinado bajo el diseño de bloques completos al azar:

$$Y_{ijk} = \mu + A_k + R(A)_{j(k)} + L_i + LA_{ik} + e_{ikjl}$$

**Donde:**

$i = 1, 2, \dots, \ell$  (líneas)

$j = 1, 2, \dots, r$  (repeticiones)

$k = 1, 2, \dots, a$  (ambientes)

$Y_{ijk}$  = observación del  $i$ -ésima línea, en el  $j$ -ésima repetición del  $k$ -ésimo ambiente.

$\mu$  = media general.

$A_k$  = efecto del  $k$ -ésimo ambiente.

$R(A)_{j(k)}$  = efecto de la  $j$ -ésima repetición en el  $k$ -ésimo ambiente.

$L_i$  = efecto del  $i$ -ésima línea.

$FA_{ik}$  = efecto de la interacción de la  $i$ -ésima línea con el  $k$ -ésimo ambiente.

$e_{ikj}$  = efecto aleatorio del error ocurrido en la unidad experimental de la  $i$ -ésima línea, en la  $j$ -ésima repetición, del  $k$ -ésimo ambiente.

Se realizó una comparación múltiple de medias mediante el procedimiento de Diferencia Mínima Significativa ( $\alpha = 0.05$ ), por medio de la siguiente fórmula:

$$D.M.S. = [ t (\alpha/2, gl \text{ error}) ] \times [ 2 \text{ CME} / r ]^{0.5}$$

**Donde:**

$t$  = valor que se obtiene de la tabla de la distribución t-student.

$\alpha$  = valor del nivel de significancia estadística.

$gl$  = grados de libertad.

$r$  = número de repeticiones utilizadas en el experimento.

**CME** = cuadrado medio del error experimental.

Los coeficientes de correlación fenotípica ( $r_{Fxy}$ ) entre variables, calcularon de acuerdo a la fórmula siguiente:

$$r_{Fxy} = \text{Cov}(x, y) / (s_x \cdot s_y),$$

Dónde:

**Cov(x, y)** = covarianza fenotípica entre las variables x e y.

**s<sub>x</sub>, s<sub>y</sub>** = desviación estándar fenotípica de las variables x e y.

En cuanto a los coeficientes de correlación genética (**r<sub>Gxy</sub>**) entre variables, se calcularon de acuerdo a la ecuación siguiente:

$$r_{Gxy} = \text{Cov G}(x, y) / (s_x \cdot s_y),$$

Dónde:

**Cov G(x, y)** = covarianza genética entre las variables x e y.

**s<sub>x</sub>, s<sub>y</sub>** = desviación estándar genética de las variables x e y.

Se realizaron análisis de regresión lineal simple entre los índices de susceptibilidad (ISS) y de tolerancia (IT) a la sequía, y el rendimiento de grano en condiciones de riego y el rendimiento en sequía, utilizando la siguiente ecuación de regresión:

$$Y_i = b_0 + bX_i$$

Dónde:

**Y<sub>i</sub>** = es i-ésimo valor estimado de la variable Y, con base en la ecuación anterior.

**b<sub>0</sub>** = valor de intercepto.

**b** = valor del coeficiente de regresión.

**X<sub>i</sub>** = es el i-ésimo valor de la variable independiente.

La totalidad de análisis estadísticos se realizaron usando el software Statistical Analysis System (SAS, 2009).

### **3.3. Evaluación Genotípica**

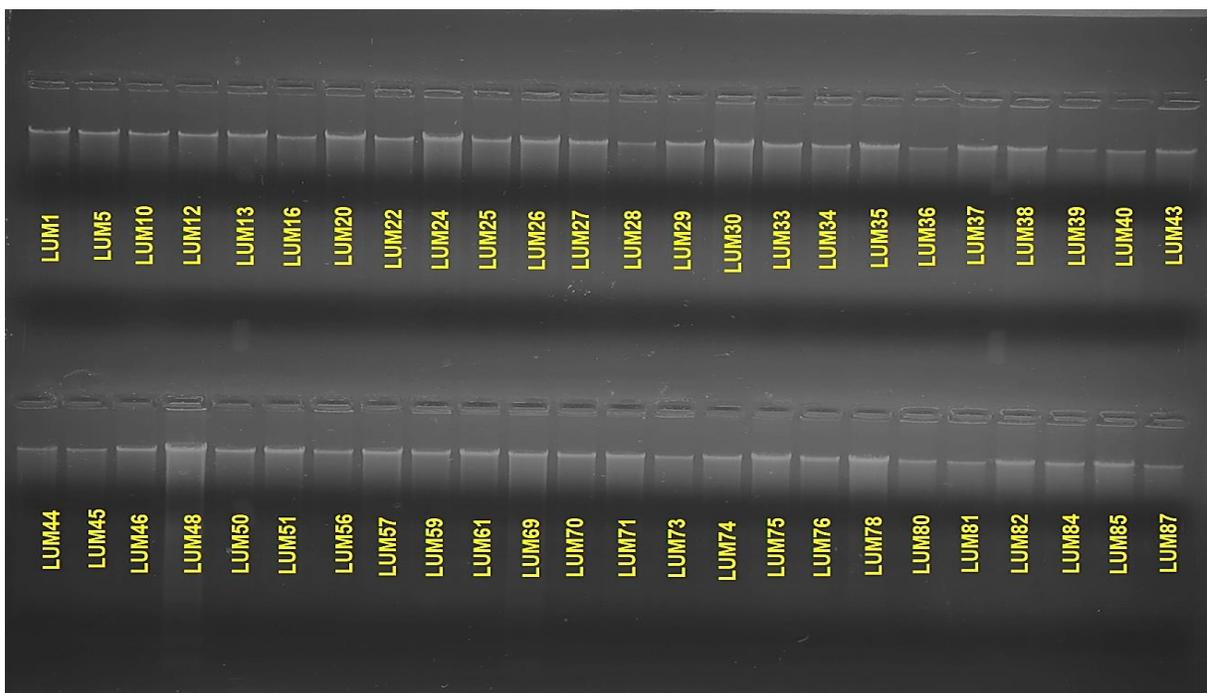
El estudio genético consistió en probar la asociación entre expresiones fenotípicas contrastantes y el patrón electroforético originado por los marcadores de secuencia simple repetida (SSR). A continuación, se describen las diferentes actividades para obtener los patrones electroforéticos del germoplasma.

#### **3.3.1. Extracción de ADN**

El genotipo de las líneas S<sub>2</sub>, se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc, dependiente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Se extrajo ADN genómico a partir de tejido foliar de 20 líneas S<sub>2</sub> y sus progenitores (Ac7643 y B39). De cada línea se colectó tejido fresco de cinco plantas tomadas al azar, colocando el tejido en tubos de plástico etiquetados previamente y se colocaron en hielo para su traslado al laboratorio. Posteriormente, se colocó en un mortero aproximadamente 200 mg del tejido vegetal y fue macerado en fresco usando 2 mL de buffer de extracción, para después verterse solo 1000 µL de la emulsión en tubos eppendorf de 2 mL; incubándose en Baño María a 65°C, durante 60 minutos. Los tubos fueron removidos del Baño María y se centrifugaron a temperatura ambiente a 12 mil revoluciones por minuto (rpm) durante 5 minutos, posteriormente se extrajo la fase líquida superior (600 µL) a un nuevo tubo eppendorf de 2.0 mL. A continuación, se añadieron 1400 µL de la solución de cloroformo y alcohol iso-amílico (24:1). Para después, centrifugar a temperatura ambiente a 8 mil rpm durante 15 minutos. Después del centrifugado se transfirió la fase líquida superior a un nuevo tubo de 2 mL y se adicionaron dos volúmenes de etanol absoluto frío (-20° C) y 50 µL de 3 M de acetato de sodio (pH 5.2) para precipitar el ADN, subsiguientemente se hicieron dos lavados del grumo con etanol al 70%. El grumo de ADN, se secó y se suspendió en 1 mL de TE + 1.5 µL de ARNasa (10 mg/mL), dejándose en baño María a una temperatura de 65°C por dos horas. Los tubos fueron almacenados a -20 °C hasta su uso en la determinación de la concentración del ADN.

### 3.3.2. Determinación de la Calidad de ADN y Fotodocumentación

Para visualizar la calidad de ADN (Figura 5) se realizó lo siguiente: se preparó en tubos eppendorf de 0.6 mL, 5  $\mu$ L de ADN más 2  $\mu$ L de colorante de carga. Posteriormente se realizó un gel de agarosa al 0.8 %. Se utilizó 150 mL de 1x TBE en un matraz y se añadió 1.2 g de agarosa. Se mezcló ligeramente y se colocó en el microondas por 1 minuto y 15 segundos. Después se mezcló nuevamente hasta que se disolviera la agarosa. Posterior a 5 minutos, se le adicionó 7.5  $\mu$ L de bromuro de etidio. La solución se vació en la caja de plástico y se dejó solidificar el gel. Una vez sólido el gel, se colocó el gel en la cámara de electroforesis para finalmente cargar las muestras de ADN previamente preparadas. La fuente de poder de la cámara, se programó a 70 V, 50 mA por 1.15 horas. Concluido el tiempo, se colocó el gel en el fotodocumentador para fotografiar.



**Figura 5.** Fotografía del gel de agarosa mostrando la integridad de ADN, del grupo de líneas segregantes S<sub>2</sub> de maíz incluidas en el estudio.

### **3.3.3. Determinación de Concentración de ADN**

La determinación de la concentración del ADN, se realizó en un equipo NanoDrop 2000 UV en el laboratorio de Fisiología Molecular de Plantas del Centro de Investigaciones en Biotecnología. El procedimiento fue colocar de cada muestra de ADN, 1  $\mu$ L en el NanoDrop 2000 UV y se procedió a tomar la lectura.

### **3.3.4. Marcadores SSR**

En esta investigación se probaron 16 marcadores de secuencia simple repetida (SSR), que fueron seleccionados con base a marcadores RFLP asociados a loci que controlan el intervalo antesis-emergencia de estigmas (ASI-acrónimo en inglés) y el rendimiento de grano (RG); se usó la base de datos Maize Genetics Database, para localizar los RFLP en un mapa de ligamiento y obtener los marcadores SSR cercanos a esas regiones genómicas. Una vez seleccionados los marcadores SSR, se revisó la misma base de datos, para obtener las secuencias de los iniciadores de los marcadores elegidos (Cuadro 2).

### **3.3.5. Amplificaciones de ADN por la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)**

El análisis de los marcadores SSR se llevó a cabo mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR acrónimo en inglés). El volumen de la reacción de PCR fue de 25  $\mu$ L y consistió en 2.5  $\mu$ L de Buffer A (10 X), 0.6  $\mu$ L de  $MgCl_2$  (50 mM), 0.5  $\mu$ L de dNTP's (10 mM), 3  $\mu$ L de cada primer, 0.2  $\mu$ L de Taq polimerasa (Vivantis), 5  $\mu$ L de ADN genómico (10 ng/ $\mu$ L) y completando el volumen total de la reacción con 10.2  $\mu$ L de  $H_2O$  inyectable. Las amplificaciones fueron conducidas utilizando el termociclador Aeris™ (ESCO®). Las condiciones de PCR para la amplificación del ADN genómico fueron: desnaturalización inicial a 93°C durante 30 s, seguido de 35 ciclos a 93°C durante 1 min, la temperatura de alineamiento del iniciador (rango usado

en esta fase de 64.8 a 68°C) fue por 1 min, 72°C durante 1 min y una fase de extensión final a 72°C por 5 min.

**Cuadro 2.** Información de los marcadores SSR utilizados en el análisis de 20 líneas S<sub>2</sub> segregantes y las líneas progenitores Ac7643 y B39.

Marcador	Bin	Secuencia	
		Forward	Reverse
bnlg1484	1.03	GTAAAAGACGACGACATTCCG	GACGTGCACTCCGTTTAACA
umc1726	1.10	GATGAGGAAGAAAAGGGAAAAGGA	AGACTCAACCCTAACCTAATGGG
bnlg2248	2.03	CCACCACATCCGTTACATCA	ACTTTGACACCGGCGAATAC
mmc0191	2.07	GGTGTTTCAGTGTGAAAGGTTA	AAGATTTCCGCAAGGTAAAC
umc102a	3.05	CTGCCTCTCAGATTCAGAGATTGAC	AACCCAACGTACTIONCCGGCAG
umc1825	3.07	ACTCAAGAGCAGACTGCAAAACCT	CGTGCATGTATTGTTTGTCTAGC
umc2048	3.10	GCTGAAGTCCCAACCACCAC	TTGACATGTTCTACCATCTCACCAA
umc1260	5.00	CTTAAGCAGAGCTCAAAAACCTGCC	TAAATTGTCAAGCGAGGTTTGGAT
bnlg1346	5.07	CATCATGAAGCAATGAAGCC	CCGCGCCATTATCTAGTTGT
bnlg1702	6.05	TTATCATCAAATGGAGGACACG	AAAGACACACGCTAATGGGC
nc013	6.05	AATGGTTTTGAGGATGCAGCGTGG	CCCCGTGATTCCCTTCAACTTTC
dupssr15	6.06	GAAGTCGATCCATCCACC	GGGGTAGTGGAGATAACTAGTG
bnlg1136	6.07	TAACCGGATGAGCATCTTCC	CATCAGCTTCAACGAGTTCCG
bnlg1863	8.03	GGCGTTCGTTTTGCACTAAT	CGACACAGTTGACATCAGG
bnlg1834	8.03	AAGGTTGGGTGTTGCTATGC	TAGCTCTGCCACTGGACATG
bnlg1460	8.03	TTTACGGCTGGAGTGCC	GACTCCGCTGTTCCAGAATC

### 3.3.6. Fotodocumentación y Análisis de Geles

Los geles de agarosa fueron preparados a una concentración de 2.5 %, la agarosa se diluyo en buffer TAE 1x y se agregó Bromuro de Etidio al gel. Los geles se corrieron a 70 voltios, por dos horas y media. Finalizada la corrida, se observó el gel en un transiluminador con luz UV.

La asociación fenotípica-patrón de bandeo genético se evaluó para los datos de las características fenotípicas de floración femenina (FF), peso de 100 granos (P100G) y rendimiento de grano (RG). Con base en la fotodocumentación del gel, producido por la electroforesis de los fragmentos de ADN amplificados por el marcador bnlg1863 que resultó polimórfico, se detectaron dos grupos de líneas, el grupo de las líneas que mostraron la banda generada por el progenitor femenino (Ac7643 tolerante a sequía) integrado por cinco líneas y el grupo de líneas con la banda del progenitor masculino (B39 susceptible a sequía) conformado por 14 líneas. Usando los datos de las variables mencionadas se compararon estadísticamente ambos grupos, mediante la técnica de contrastes no ortogonales, considerando presencia de asociación fenotipo-patrón de bandeo, si el contraste mostraba diferencia altamente significativa ( $P \leq 0.01$ ).

## CAPÍTULO IV

(Artículo Publicado)

### CARACTERIZACIÓN DE LA RESPUESTA A LA SEQUÍA DE LÍNEAS SEGREGANTES DE MAÍZ (*Zea mays* L.)

Elizabeth Ibarra Sánchez<sup>1</sup>, Antonio Castillo Gutiérrez<sup>2\*</sup>, María Eugenia Núñez  
Valdéz<sup>3</sup>, Ramón Suárez Rodríguez<sup>4</sup>, María Andrade Rodríguez<sup>1</sup>, Francisco Perdomo  
Roldán<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), Av. Universidad No. 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos. C.P. 62209. Tel. (777) 329 7981. <sup>2</sup>Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc-UAEM, <sup>3</sup>Centro de Investigación en Dinámica Celular-UAEM. <sup>4</sup>Centro de Investigación en Biotecnología-UAEM.

*\*Autor para correspondencia (antonio.castillo@uaem.mx)*

#### 4.1. RESUMEN

El estrés por sequía es una de las principales causas de la reducción del rendimiento del maíz en los trópicos, principalmente en la agricultura que depende de lluvias, por lo que se requiere generar genotipos con tolerancia a sequía. Los objetivos de la investigación fueron cuantificar la respuesta agronómica de un grupo de líneas S<sub>2</sub> segregantes de maíz en ambientes de riego y sequía, así como seleccionar líneas con tolerancia al déficit hídrico, con base en dos índices y al promedio de rendimiento de ambos ambientes. Los genotipos de estudio fueron 96 líneas S<sub>2</sub> segregantes, dos líneas testigo y dos líneas no seleccionadas para sequía. Las líneas se evaluaron bajo riego y sequía inducida usando un diseño Látice Alfa con cuatro repeticiones, en Ayala, Morelos, México. Se midieron 10 variables morfológicas y se estimaron los índices de susceptibilidad a la sequía (ISS) y el índice de tolerancia (IT). Con base en el rendimiento de grano en riego (3.14 t ha<sup>-1</sup>), se observó una reducción del 77.7 % del rendimiento en sequía (0.70 t ha<sup>-1</sup>). Los índices ISS e IT identificaron a las líneas LUM69, LUM82 y LUM30 como tolerantes a sequía, solo LUM69 mostró un rendimiento competitivo en ambos ambientes. Los índices de ISS e IT como criterio para identificar genotipos tolerantes, no seleccionaron a las líneas con mejor rendimiento de grano bajo condiciones de riego, por lo que se debe incluir en los criterios de selección al promedio de rendimiento a través de los ambientes de humedad.

**Palabras clave:** tolerancia a la sequía, líneas S<sub>2</sub>, índices de susceptibilidad.

## 4.2. SUMMARY

Drought stress is one of the main causes of maize yield reduction in the tropics, mainly in rainfall-dependent agriculture; therefore, drought-tolerant genotypes are required. The objectives of the research were to quantify the agronomic response of a group of segregating  $S_2$  maize lines in irrigation and drought environments, as well as to select drought-tolerant lines, based on two indices and the average yield of both environments. The evaluated genotypes were 96 segregated  $S_2$  lines, two control lines and two unselected lines for drought. The lines were tested under irrigation and induced drought using an Alfa Lattice design with four replications, in Ayala, Morelos, Mexico. Ten morphological variables were measured and drought susceptibility indexes (ISS) and tolerance indexes (IT) were estimated. Based on the grain yield under irrigation ( $3.14 \text{ t ha}^{-1}$ ), a reduction was observed of 77.7 % in the drought environment ( $0.70 \text{ t ha}^{-1}$ ). The ISS and IT indices identified the LUM69, LUM82 and LUM30 lines as drought tolerant, only LUM69 showed competitive performance in both environments. ISS and IT indices as a criterion for identifying tolerant genotypes did not select the lines with the best grain yield under irrigation conditions, so it should be included in the criteria of selection to average yield across humidity environments.

**Key words:** drought tolerance,  $S_2$  lines, susceptibility index.

### 4.3. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.), es el cultivo de mayor importancia en México, de manera que en el 2018 se establecieron aproximadamente 7.4 millones de hectáreas, con un rendimiento promedio de 3.8 t ha<sup>-1</sup>; donde el 72 % se estableció en el ciclo de lluvias y el resto en condiciones de riego. En el estado de Morelos se siembran cerca de 38 mil hectáreas de maíz, de las cuales el 93 % se realiza en condiciones de precipitación pluvial, con un promedio de rendimiento de grano de 4.0 t ha<sup>-1</sup> (SIAP-SAGARPA, 2019).

En México, el 52 % de su superficie agrícola se cataloga como zona árida o semiárida, lo que la hace altamente susceptible a sequía (Salinas *et al.*, 1998). El déficit hídrico ocurre cuando la cantidad de lluvia ha sido significativamente más baja de lo normal, respecto al índice anual de precipitación. Por otra parte, los efectos del estrés por falta de agua se relacionan directamente con la intensidad y duración del déficit hídrico, lo que provoca una reducción significativa en el rendimiento de grano (CONAZA, 2010; FAO-SAGARPA, 2012; Esparza, 2014). La sequía, es el factor más importante que limita la productividad del maíz en regiones que dependen de la precipitación pluvial (Srivatava, 2014; Shafiq *et al.*, 2015). En México, en los últimos 14 años se han reportado altos niveles de sequía en el ciclo agrícola primavera-verano; particularmente en el año 2011, se registró déficit de lluvias durante los meses de junio a septiembre, afectando el 21.3 % de la superficie sembrada con maíz para grano (SMN, 2017; SIAP-SAGARPA, 2017).

La magnitud del efecto del déficit hídrico en el rendimiento de grano de maíz, dependen de la intensidad, duración y etapa de fenológica en que se presenta; cuando la sequía ocurre en la fase vegetativa, se reduce la altura de planta y la duración del área foliar, lo que afecta la tasa fotosintética; sin embargo, el periodo más sensible en la planta de maíz es el periodo constituido entre una semana antes y dos semanas después de floración masculina (Stone *et al.*, 2001; Avendaño *et al.*, 2005). El efecto mayor

observado es el retraso de la floración femenina, incrementando el intervalo anthesis-emergencia de estigmas, lo que reduce la producción final de grano (Westgate y Boyer, 1986; Saini y Westgate, 2000). Cuando la sequía es prologada se afecta el crecimiento, desarrollo y la producción en la planta de maíz, como una consecuencia del impacto en procesos fisiológicos y bioquímicos (Khalili *et al.*, 2013).

En la cuantificación del efecto de la sequía en plantas cultivadas, se han desarrollado índices que permiten medir la respuesta de genotipos al déficit hídrico; la mayoría de los índices se calculan con base en el rendimiento de grano en condiciones de riego y sequía (Fischer y Maurer, 1978; Rosielle y Hamblin, 1981), lo que hace necesario identificar características agronómicas relacionadas con la adaptación a condiciones limitantes de humedad, lo que facilita la selección de genotipos sobresalientes en forma práctica y eficiente.

El fitomejoramiento convencional ha desarrollado genotipos con tolerancia a la sequía, por medio de métodos que evalúan y seleccionan genotipos en condiciones limitantes y no limitantes de humedad; lo que ha permitido identificar características deseables que faciliten obtener la mayor ganancia genética en ambas condiciones de humedad (Muñoz, 1980; Fischer *et al.*, 1989; Bruce *et al.*, 2002). Los criterios de selección más usados para tolerancia a sequía, se enfocan en el rendimiento de grano y caracteres secundarios que contribuyen a optimizar la respuesta de las plantas al déficit de agua (Badu-Apraku *et al.*, 2011), los caracteres secundarios comúnmente usados en la selección indirecta para tolerancia a sequía son, corto intervalo anthesis-emergencia de estigmas, baja senescencia foliar, espiga pequeña y hojas arriba de la mazorca erectas (Edmeades *et al.*, 1999); debido a que la selección directa para rendimiento de grano en ambientes limitantes de humedad es complicado, por la baja heredabilidad de éste carácter (Ribaut *et al.*, 1996).

Un método eficiente para incrementar la tolerancia y estabilizar el rendimiento en condiciones de baja humedad, es la selección recurrente de genotipos de alto rendimiento a través de ambientes con déficit y sin déficit de humedad. Este método

ha demostrado ser efectivo en maíz, sin embargo, es costoso y tardado; en la población de maíz Tuxpeño Sequía obtenida a través de ocho ciclos de selección bajo déficit de agua, se incrementó el rendimiento de grano en  $108 \text{ kg ha}^{-1}$  por ciclo (Bolaños y Edmeades, 1993). En tanto que en otro estudio, se reportó que la selección recurrente de cinco ciclos de selección continua, el rendimiento de grano en sequía tuvo una ganancia genética del 12 % por ciclo de selección (Chapman y Edmeades, 1999).

La formación e identificación de líneas endogámicas segregantes a partir de la generación  $F_2$ , potencializa la generación de varianza genética por la segregación alélica originada por el cruzamiento de líneas altamente endogámicas contrastantes en el carácter de interés (Walsh, 2001). A partir de la cruce entre las líneas SD34 y SD35 contrastantes en tolerancia a sequía, se derivaron 230 familias  $F_3$ , detectando correlaciones fenotípicas entre el rendimiento de grano y el intervalo anthesis-emergencia de estigmas ( $-0.50^{**}$ ); así como con el número de mazorcas por planta ( $0.53^{**}$ ), las heredabilidades relativamente altas en sequía en estas características, facilitó la selección indirecta de genotipos de alto rendimiento en sequía (Agrama y Moussa, 1996). La línea progenitora tolerante del presente estudio (Ac7643), se usó también como progenitor tolerante para generar 234 familias segregantes, las que se evaluaron en condiciones de sequía intermedia y severa, lo mismo que en riego, las variables de floración masculina, femenina, intervalo anthesis-emergencia de estigmas (ASI) y rendimiento de grano manifestaron segregación transgresiva en sequía severa, el ASI de las familias mostró un rango de  $-4.4$  a  $9.3$  días y en el rendimiento de grano se observó una reducción del 61% del rendimiento en sequía; en cuanto al comportamiento de Ac7643 se reportó un ASI corto de  $-0.2$  días en estrés intermedio y de  $-0.6$  días bajo estrés hídrico severo, con un rendimiento de grano  $1326 \text{ kg. ha}^{-1}$  en el ambiente de sequía (Ribaut *et al.*, 1996 y 1997). El comportamiento de la línea progenitora susceptible B39 en ambientes de contrastantes de humedad, presentó en riego valores del intervalo anthesis-emergencia de estigmas y rendimiento de grano de  $1.9 \text{ d}$  y  $2.4 \text{ t ha}^{-1}$ , respectivamente; en tanto que, en sequía los valores para las mismas variables fueron de  $9.8 \text{ d}$  y de  $0.4 \text{ t ha}^{-1}$  (Castillo, 2004).

Uno de los propósitos de generar poblaciones segregantes a partir del cruzamiento entre una línea tolerante y una susceptible, es generar nueva variación genética y tener la posibilidad de detectar herencia transgresiva en la expresión fenotípica de características de interés. Los objetivos de la investigación fueron cuantificar la respuesta agronómica de un grupo de líneas S<sub>2</sub> segregantes de maíz en ambientes de riego y sequía, así como seleccionar líneas con tolerancia al déficit hídrico, con base al promedio de rendimiento de ambos ambientes.

#### 4.4. MATERIALES Y MÉTODOS

El germoplasma de estudio estuvo constituido por 100 genotipos de maíz, de los cuales 96 fueron líneas S<sub>2</sub> segregantes, la línea testigo T-43 con tolerancia a la sequía, línea testigo Ac7729 susceptible a la sequía y dos líneas S<sub>2</sub>, provenientes de otra población segregante. Las líneas S<sub>2</sub> provienen, del cruzamiento de las líneas Ac7643 (tolerante a sequía) y B39 (susceptible a sequía). Las líneas endogámicas T-43 y B39 fueron proporcionados por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), en tanto que las líneas Ac7643 y Ac7729 fueron facilitadas por el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). Las líneas se evaluaron en experimentos de campo en condiciones de riego y sequía inducida; se establecieron en el campo experimental de la Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc, de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, en el municipio de Ayala, Morelos. La localidad se caracteriza por presentar un clima Cálido Sub-húmedo, suelo tipo vertisol, a 1285 m de altitud con rango de temperaturas de 8.4 a 36.0 °C y una precipitación media anual de 912 mm (INEGI, 2008).

El ambiente de riego se estableció en el ciclo de lluvias correspondiente a primavera-verano 2016, período en el cual no hubo limitación de humedad para el cultivo, registrándose 1089 mm de precipitación total durante el ciclo biológico del cultivo. En cuanto al ambiente de sequía, se estableció en el ciclo agrícola otoño-invierno 2016/17 (donde comúnmente no se presentan lluvias), para el manejo de humedad en éste ambiente, suministró un riego de siembra (90 mm), uno de emergencia (40 mm) a los 9 días después del de siembra, posteriormente tres riegos de auxilio de 55 mm cada uno, a intervalos de 12 d; suspendiéndose la irrigación a los 45 d después de la siembra; a los 77 d se suministró un riego ligero (30 mm) aplicando el riego en surcos alternos, y a partir del día 94 se proporcionaron dos riegos de 30 mm cada uno, para favorecer el llenado de grano, aplicándose una lámina total de riego de 385 mm. El diseño experimental utilizado en ambos ambientes fue un Látice Alfa (0,1), con cuatro repeticiones por entrada y por ambiente; los genotipos se sembraron en 10 bloques,

con 10 unidades experimentales por bloque. La unidad experimental fue un surco de 4 m de largo, 0.75 m de ancho y a 0.20 m la distancia entre plantas. El manejo agronómico de los experimentos de campo fue conducido de acuerdo a la guía técnica del Campo Experimental de Zacatepec, Morelos (Trujillo, 2002). Se registraron 10 variables de respuesta, floración masculina y femenina (FM-d y FF-d), intervalo antesis emergencia de estigmas (ASI-d), las variables relacionadas con la floración se registraron en la etapa fenológica VT y R1, altura de planta y mazorca (AP-cm y AM-cm), en cuanto a las alturas se midieron en la etapa R4, hileras por mazorca (HM-No.), longitud de mazorca (LM-cm) diámetro de mazorca (DM-cm), peso de 100 granos (P100G-g) y rendimiento de grano (RG-t ha<sup>-1</sup>), las ultimas variables se determinaron posterior a la madurez comercial.

Los datos generados por los experimentos se sometieron a análisis de varianza combinados a través de los dos ambientes de evaluación (riego-sequía) para las 10 variables de respuesta, posteriormente se realizo una comparación múltiple de medias mediante el procedimiento de Diferencia Mínima Significativa ( $\alpha = 0.05$ ) y un análisis de regresión lineal.

Con el propósito de cuantificar la respuesta de las líneas a la sequía, se determinaron el Índice de Susceptibilidad a la Sequía (ISS) [Fischer y Maurer, 1978] y el Índice de Tolerancia (IT) [Rosielle y Hamblin, 1981]. El ISS se estimó por la ecuación siguiente:  $ISS = 1 - [Y_s / Y_r] / 1 - [Y_{sm} / Y_{rm}]$ . Dónde: **Y<sub>s</sub>**= promedio de rendimiento de la i-ésima línea en el ambiente de sequía; **Y<sub>r</sub>**= promedio de rendimiento de la i-ésima línea en el ambiente de riego; **Y<sub>sm</sub>** = promedio de rendimiento de todas las líneas en el ambiente de sequía y **Y<sub>rm</sub>** = promedio de rendimiento de todas las líneas en el ambiente de riego. En el ISS los valores menores a uno, indican relativa tolerancia a la sequía en los genotipos.

En cuanto al IT se calculó mediante la siguiente ecuación:  $IT = Y_1 - Y_2$ . Dónde: **Y<sub>1</sub>** = el rendimiento de grano de la línea en el ambiente de riego; **Y<sub>2</sub>** = rendimiento de grano

de la línea en el ambiente de sequía. En el IT los valores relativamente más bajos, indican que un genotipo es tolerante a la sequía.

Los valores de ambos índices se calcularon para cada genotipo y cada repetición, lo que permitió realizar un análisis de varianza de una vía, para posteriormente realizar una prueba de comparación de medias, por medio de una prueba  $DMS_{(0.05)}$ . La totalidad de los análisis estadísticos se realizaron usando el software Statistical Analysis System (SAS, 2009).

#### 4.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las líneas en el ambiente de riego produjeron un promedio del rendimiento de grano de 3.14 t ha<sup>-1</sup>, en comparación al promedio del ambiente de sequía de 0.70 t ha<sup>-1</sup>, lo que indujo una reducción del 77.7 % por causa de la sequía en combinación con altas temperaturas; lo que se sustenta en los 1089 mm de precipitación registrada en el ambiente de riego, con temperaturas fluctuando de 27.7 a 29.5 °C, en tanto que en sequía, se aplicó una lámina total de riego de 385 mm y se registraron temperaturas de 28.8 a 33.9 °C, restringiéndose la humedad cerca de la floración masculina.

El análisis de varianza combinado (Cuadro 4.1) en las fuentes de variación de Ambientes, Líneas y la interacción Línea x Ambiente mostró diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ) para todas las variables estudiadas. Las diferencias estadísticas entre ambientes (riego-sequía) detectadas por el ANOVA combinado, se explican por el contrastante en las condiciones de humedad a la cual se sometieron los genotipos y por los ciclos agrícolas de evaluación; es decir, las condiciones ambientales como temperatura y humedad relativa que prevalecieron en el ciclo agrícola primavera-verano fluctuaron entre 15.7 °C y 28.3 °C, 74.7 a 78.4 %, respectivamente. En tanto que, en el ciclo otoño-invierno la temperatura osciló entre 13.3 °C y 32.4 °C, y la humedad relativa entre 31.3 a 51.0 % (INIFAP, 2017; SMN, 2017). La variación en la temperatura del aire y humedad relativa entre los ciclos agrícolas de evaluación, tienen efecto directo en el grado de expresión fenotípica, particularmente en variables morfológicas; por lo que, las fluctuaciones ambientales tienen un impacto en la respuesta agronómica del germoplasma a través de diferentes sitios y ambientes de prueba (Zambrano, *et al.*, 2017). En cuanto, a las diferencias estadísticas detectadas entre líneas, esta se atribuye a la variación genética presente en el grupo de líneas evaluado, debido a que son líneas segregantes provenientes del cruzamiento de dos líneas contrastantes en respuesta a la sequía, lo que generó segregación alélica en múltiples loci lo que se reflejó en una amplia variación en la respuesta agronómica de las líneas. Por otro lado, la selección directa para rendimiento de grano bajo sequía,

ha sido considerada ineficiente debido a la baja heredabilidad del carácter (Ribaut *et al.*, 1996), por lo que se considera más efectiva la selección de líneas tolerantes, el evaluarlas en condiciones limitantes y no limitantes de agua.

La presencia de interacción genotipo x ambiente (L x Amb) en todas las variables estudiadas, demostró que los ambientes de evaluación afectaron de manera importante la expresión fenotípica de las líneas; en general se observó que las líneas con relativo alto rendimiento de grano en el ambiente de riego, no fueron las más sobresalientes en el ambiente de sequía. Debido a la presencia de interacción genotipo x ambiente, la evaluación de genotipos para identificar tolerantes a la sequía, requiere de evaluaciones del rendimiento de grano en condiciones hídricas favorables y desfavorables (Rosielle y Hamblin, 1981), debido a que los genotipos responden diferencialmente a la condición de humedad y al grado de intensidad de la sequía (Golbashy *et al.*, 2010).

**Cuadro 4.1.** Valores estadísticos de características morfológicas de líneas S<sub>2</sub> de maíz (*Zea mays* L.) evaluadas bajo riego-sequía en Ayala, Morelos, México.

FV	Amb	Reps/Amb	Bl/Reps	Amb	Líneas	L x Amb	Error	CV
GL	1	6	72		99	99	522	(%)
FM d	73594.00**	9.72**	1.40*		12.99**	5.07**	1.03	1.41
FF d	93723.00**	18.84**	3.52**		16.94**	8.33**	2.25	2.01
ASI <sup>†</sup>	2.10**	0.01ns	0.01ns		0.01**	0.01**	0.01	4.02
AP cm	3674313.00**	1556.27**	393.81**		1061.67**	471.80**	84.82	5.19
AM cm	1070777.00**	314.46**	161.06**		834.10**	291.36**	70.28	10.05
HM No.	1682.00**	14.79**	1.68*		14.19**	4.19**	1.20	8.34
LM cm	1212.54**	5.19ns	2.44**		7.02**	3.61**	1.82	11.70
DM cm	147.49**	0.66*	0.06ns		0.32**	0.08**	0.05	6.73
P100G g	8719.53**	13.41*	4.34ns		32.19**	8.42**	3.36	10.98
RG t ha <sup>-1</sup>	1201.86**	1.29*	0.43ns		2.60**	1.60*	0.40	32.61

FV= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; ns= No significativo; \* = Significativo al 5 %; \*\*= Significativo al 1 %; FM= floración masculina; FF= floración femenina; ASI = Intervalo antesis-emergencia de estigmas; AP= altura de planta; AM= altura de mazorca; HM= hileras por mazorca; LM= longitud de mazorca; DM=diámetro de mazorca; P100S= peso de 100 semillas; RG= rendimiento de grano; CV= coeficiente de variación.

Considerando al rendimiento de grano en sequía, como criterio para elegir líneas contrastantes en respuesta a la tensión hídrica; el Cuadro 4.2 muestra los promedios de características críticas en los ambientes de sequía y riego de seis líneas de alto y seis de bajo rendimiento relativo bajo sequía. El grupo de líneas sobresalientes en rendimiento en el ambiente de sequía, con respecto al ambiente de riego mostró una reducción del 65.1 % en el rendimiento; sin embargo, la reducción fue mayor (90 %) para el grupo de líneas con bajo rendimiento de grano en sequía. En lo que respecta a los días a floración femenina (FF) tanto las líneas de mayor como las de menor rendimiento de grano en riego, fueron más precoces (20 y 24 días respectivamente) en comparación al ambiente de sequía.

**Cuadro 4.2.** Medias de las líneas de mayor y menor rendimiento de grano seleccionadas con base en el rendimiento bajo sequía del grupo de líneas segregantes de maíz (*Zea mays* L.).

Línea	Sequía				Riego			
	RG t ha <sup>-1</sup>	FF d	ASI d	AP cm	RG t ha <sup>-1</sup>	FF d	ASI d	AP cm
LUM69	2.12	84	3	101	2.66	65	2	241
LUM80	1.53	83	3	131	5.59	63	1	273
LUM57	1.23	85	3	123	4.02	66	2	252
LUM137	1.23	82	4	97	3.20	60	2	224
LUM51	1.19	83	3	115	3.71	63	0	229
LUM188	1.15	85	4	130	5.05	65	0	278
<b>Media</b>	<b>1.41</b>	<b>84</b>	<b>3</b>	<b>116</b>	<b>4.04</b>	<b>64</b>	<b>1</b>	<b>250</b>
LUM144	0.32	85	3	122	2.69	62	2	254
LUM134	0.30	92	7	128	3.93	67	2	271
LUM113	0.29	92	8	104	1.84	65	1	256
LUM29	0.28	87	6	103	2.10	63	2	231
LUM108	0.27	86	4	109	3.21	63	2	243
LUM126	0.17	93	6	101	2.32	67	1	253
<b>Media</b>	<b>0.27</b>	<b>89</b>	<b>6</b>	<b>111</b>	<b>2.68</b>	<b>65</b>	<b>1</b>	<b>251</b>
<b>DMS<sub>(0.05)</sub></b>	<b>0.43</b>	<b>2.11</b>	<b>1.9</b>	<b>14.8</b>	<b>1.16</b>	<b>2.08</b>	<b>1.0</b>	<b>10.5</b>

DMS: Diferencia Mínima Significativa.

Para la variable de intervalo antes de emergencia de estigmas, el grupo de líneas sobresalientes en el ambiente de sequía manifestó un retraso de dos días con respecto a las de riego; en tanto que la respuesta en líneas de menor rendimiento, el retraso fue de cuatro días. En lo que concierne a la altura de planta el grupo de líneas sobresalientes mostró una reducción en altura de 53.6 %, con respecto al ambiente de riego; y el grupo de menor rendimiento reveló una reducción en altura del orden del 55.8 %. Estos resultados demuestran el efecto de la disponibilidad del agua en el comportamiento agronómico de los genotipos, lo que apoya la idea de que las evaluaciones para seleccionar genotipos tolerantes a sequía deben realizarse en ambientes que contrasten en humedad (Messina *et al.*, 2015).

Los análisis de varianza de los índices de susceptibilidad a la sequía (ISS) e índice de tolerancia (IT), permitieron determinar diferencias altamente significativas entre genotipos para ambos índices (Cuadro 4.3), los coeficientes de variación para los dos índices mostraron valores aceptables de 17.27 y 19.98 %, para ISS y IT, respectivamente. Los resultados obtenidos en ambos índices, permite inferir que la población segregante evaluada en esta investigación, posee una gran variabilidad genética en el rendimiento de grano, que se manifiesta tanto en ambientes de riego como en sequía; lo que se reflejó en la gran variación de valores de los índices ISS e IT en los genotipos probados. Se observó que las líneas con un mayor ISS e IT tuvieron un menor rendimiento de grano en el ambiente de sequía, lo que significa una respuesta de susceptibilidad a la escasez de agua, en tanto que las líneas mostrando valores pequeños en los índices pueden ser clasificadas como tolerantes a la sequía (Estrada *et al.*, 2016).

**Cuadro 4.3.** Cuadrados medios del análisis de varianza de una vía para los índices de susceptibilidad a la sequía (ISS) e índice de tolerancia (IT).

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>ISS</b>	<b>IT</b>
Líneas	99	0.103**	0.486**
Error	300	0.027	0.090
CV (%)		17.27	19.98

FV= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; \*\*= Significativo al 1 %; CV= coeficiente de variación.

Los índices de susceptibilidad (ISS) y de tolerancia (IT) a la sequía identificaron dos grupos de líneas; uno clasificado como tolerante, compuesto por 13 líneas y un segundo grupo considerado como susceptible, conformado por cinco líneas (Cuadro 4.4); ambos índices identificaron al mismo grupo de líneas, sin embargo, la posición de las líneas fue distinta. Las líneas clasificadas por los índices como tolerantes, presentaron una reducción en el rendimiento de grano promedio de alrededor del 58.6 % en el ambiente de sequía, mientras que las líneas clasificadas como susceptibles, mostraron una mayor disminución del rendimiento de grano en sequía (88.9 %); estos resultados son similares a los reportados por otros estudios donde las pérdidas de rendimiento en el ambiente de sequía fueron de alrededor del 71.5 %, en relación a riego (Golbashy *et al.*, 2010). Por otro lado, se identificó a la línea LUM69 con el valor más bajo en el ISS (0.25), lo que significa que puede ser clasificada como la línea más tolerante a la sequía, inclusive superó en tolerancia a la línea testigo tolerante T-43 (0.38); adicionalmente la misma línea LUM69 mostró el mayor rendimiento de grano en el ambiente de sequía (2.12 t ha<sup>-1</sup>), no obstante, en riego no fue una de las de mayor rendimiento.

En cuanto al índice IT la línea LUM69 fue una de las tres líneas con mayor tolerancia a sequía con un valor en dicho índice de 0.54 y aunque fue superada por las líneas LUM30 (0.46) y LUM82 (0.50); no hubo diferencia estadística significativa entre las tres líneas. En cuanto al grupo de líneas clasificadas como susceptibles, las cinco líneas revelaron tener un valor superior a 1.01 en el ISS, valor correspondiente a la línea testigo susceptible Ac7729; sin embargo, no se observaron diferencias

estadísticas significativas entre la línea testigo y el grupo de líneas clasificadas como susceptibles. Un similar comportamiento se observó en el índice IT con el grupo de

**Cuadro 4.4.** Líneas tolerantes y susceptibles seleccionadas por el Índice de Susceptibilidad a la Sequía (ISS) y el Índice de Tolerancia (IT), en la población segregante de maíz (*Zea mays* L.) evaluada.

LÍNEA	ISS	IT	Sequía	Riego
			RG	RG
t ha <sup>-1</sup>				
<b>Líneas tolerantes</b>				
LUM69	0.25	0.54	2.12	2.66
LUM82	0.51	0.50	0.66	1.15
LUM30	0.53	0.46	0.60	1.06
LUM28	0.63	0.98	0.49	1.46
LUM109	0.68	0.87	0.57	1.43
LUM10	0.69	0.83	0.69	1.51
LUM70	0.71	1.10	0.82	1.92
LUM96	0.71	0.92	0.56	1.48
LUM153	0.72	0.95	0.61	1.56
LUM78	0.75	1.44	0.98	2.41
LUM33	0.76	1.01	0.74	3.95
LUM101	0.80	1.03	0.52	1.55
LUM38	0.80	0.88	0.47	1.35
<b>Media</b>	<b>0.66</b>	<b>0.89</b>	<b>0.76</b>	<b>1.81</b>
<b>Líneas susceptibles</b>				
LUM173	1.11	3.85	0.62	4.48
LUM73	1.13	3.80	0.48	4.29
LUM97	1.13	3.40	0.47	3.87
LUM44	1.15	3.29	0.36	3.66
LUM134	1.19	3.63	0.30	3.93
<b>Media</b>	<b>1.14</b>	<b>3.59</b>	<b>0.45</b>	<b>4.05</b>
<b>DMS<sub>(0.05)</sub></b>	<b>0.23</b>	<b>1.23</b>	<b>0.43</b>	<b>1.16</b>

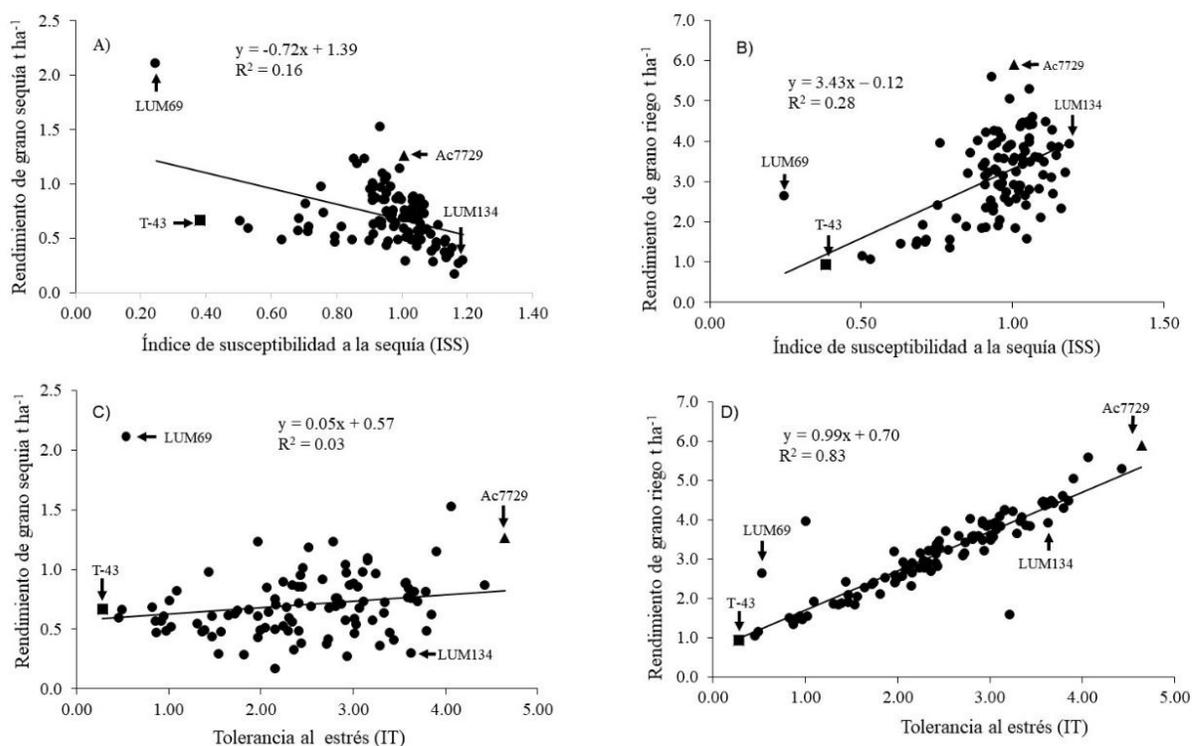
**DMS:** Diferencia Mínima Significativa.

líneas seleccionadas como susceptibles, estas manifestaron valores estadísticamente iguales al de la línea testigo Ac7729 (4.64). Aunque los índices ISS e IT son un criterio aceptable por fitomejoradores para identificar genotipos con tolerancia a sequía, dichos genotipos no necesariamente presentan los mayores rendimientos en el ambiente de riego (Jafari *et al.*, 2009). Lo anterior se debe a que el rendimiento en riego y sequía no se determinan por las mismas características de la planta, otra causa es que la interacción genotipo x ambiente se vuelve significativa cuando se incrementa el nivel de estrés, adicionalmente cuando se seleccionan genotipos en ambientes no limitantes, se pierde variabilidad genética para tolerancia a algún estrés (Bänziger *et al.*, 2012).

La relación entre los índices ISS e IT con el rendimiento de grano en sequía, generó una pendiente negativa ( $b = -0.23^{**}$ ) entre el ISS y el rendimiento de grano en sequía (Figura 4.1A); en tanto que con el rendimiento en riego, la pendiente fue positiva ( $b = 0.08^{**}$ ) [Figura 4.1B]. En cuanto al índice de IT, no se detectó relación con el rendimiento de grano en sequía ( $b = 0.61^{ns}$ ) [Figura 4.1C]; pero sí se observó una marcada relación positiva con el rendimiento de grano en riego ( $b = 0.83^{**}$ ) [Figura 4.1D], resultado similar al encontrado en el ISS, aunque con un mayor ajuste a la recta de regresión. La línea LUM69 identificada como tolerante a la sequía, superó en el valor de ambos índices a la línea testigo tolerante (T-43); se observa en las gráficas como dicha línea se separa del grupo de las líneas tolerantes.

La respuesta de las líneas testigo T-43 (tolerante) y Ac7729 (susceptible) fue la esperada, estas líneas difieren marcadamente en el rendimiento de grano bajo condiciones de riego (5.91 y 0.95 t ha<sup>-1</sup>, para Ac7729 y T-43, respectivamente); respecto a la reducción en el rendimiento de grano por causa de sequía, la disminución fue muy drástica en la línea Ac7729 (78.7 %), en contraste la disminución en la testigo tolerante (T-43) fue del 29.5%, el comportamiento de la línea Ac7729 en éste estudio, fue muy similar a lo reportado por Ribaut *et al.* (1997).

La amplia variación genética presente en el grupo de líneas segregantes y observada en la respuesta en las diez características estudiadas en el ambiente de sequía; puede ser una de las causas principales de la falta de ajuste a la recta de regresión, particularmente con el rendimiento de grano en sequía; se identificó a la línea LUM69 como la de menor reducción del rendimiento en sequía (20.3 %), en contraste LUM134 tuvo la mayor reducción del rendimiento de grano (90.9 %). Los genotipos que presentan bajos valores a través de los índices de ISS y el IT identifican genotipos con buen rendimiento bajo estrés; sin embargo, también son aquellos genotipos que presentan poca diferencia entre el ambiente de riego y sequía (Mohammadi, 2016).



**Figura 4.1.** Regresión lineal entre el ISS con el RG bajo condiciones de sequía (A) y de riego (B); y el IT con el rendimiento en sequía (C) y en condiciones de riego (D).

Con base a que los genotipos tolerantes identificados por los índices de ISS e IT, no son los más rendidores bajo condiciones de riego, se obtuvo el promedio a través de ambos ambientes de evaluación (RG combinado), con el propósito de identificar qué líneas integraban grupos contrastantes extremas en RG. En el Cuadro 4.5 se presentan los dos grupos contrastantes identificados; uno de los resultados determinó que la

**Cuadro 4.5.** Líneas segregantes de maíz (*Zea mays* L.) de mayor y menor rendimiento de grano identificadas a través de los ambientes de riego y sequía.

LÍNEA	Medias ambos ambientes t ha <sup>-1</sup>	Riego t ha <sup>-1</sup>	Sequía t ha <sup>-1</sup>
<b>Mayor rendimiento</b>			
LUM80	3.56	5.59	1.53
LUM188	3.10	5.05	1.15
LUM145	3.08	5.29	0.86
LUM184	2.71	4.61	0.81
LUM22	2.68	4.47	0.89
<b>Media</b>	<b>3.02</b>	<b>5.00</b>	<b>1.05</b>
<b>Menor rendimiento</b>			
LUM109	1.00	1.433	0.57
LUM28	0.97	1.460	0.49
LUM38	0.91	1.345	0.47
LUM82	0.90	1.154	0.66
LUM30	0.83	1.057	0.60
<b>Media</b>	<b>0.92</b>	<b>1.29</b>	<b>0.56</b>
<b>DMS<sub>(0.05)</sub></b>	<b>0.62</b>	<b>1.16</b>	<b>0.43</b>

DMS: Diferencia Mínima Significativa.

media del grupo de líneas con mayor RG combinado, superó en 69.5 %, al promedio del grupo de líneas de bajo RG combinado. Al analizar el RG en riego entre ambos grupos contrastantes, se encontró que el grupo de líneas sobresalientes en el RG

combinado, tuvieron un RG promedio en riego de 5.0 t ha<sup>-1</sup>, superando en 74.2 % al RG de las líneas de bajo RG combinado, en tanto que la misma comparación, pero considerando el RG en sequía; el grupo de líneas de alto RG combinado superó en 37.1 % al rendimiento de grano de las líneas de bajo RG combinado. En cuanto al grupo de líneas sobresalientes en RG combinado, dichas líneas identificadas no coinciden con las líneas seleccionadas como tolerantes por los índices ISS e IT. Con base a que no en todos los años se presenta sequía, se debería considerar analizar el comportamiento promedio de genotipos a través de ambientes de humedad, para elegir el germoplasma de mayor tolerancia a la sequía (Rosielle y Hamblin, 1981); debido a que la selección del germoplasma tolerante basada en los índices ISS e IT, identifican genotipos que presentan una menor reducción del RG en condiciones de sequía, pero no garantiza que sean los mejores en condiciones no limitantes de humedad (López *et al.*, 2008).

#### 4.6. CONCLUSIONES

La evaluación de la población segregante de maíz en condiciones de riego y sequía, reveló una gran cantidad de variabilidad genética entre líneas. La intensidad aplicada del déficit hídrico, fue suficiente para inducir la expresión genética de la población e identificar líneas tolerantes a éste factor de estrés, así como producir una reducción en el rendimiento del 77.7 %. Los índices de susceptibilidad a la sequía (ISS) y de tolerancia (IT) clasificaron a las líneas LUM69, LUM82 y LUM30 como las de mayor tolerancia a la sequía; sin embargo, solo la línea LUM69 mostró rendimientos competitivos tanto en riego como en sequía. Con base en el promedio a través de ambientes de humedad, las líneas LUM80 (3.56 t ha<sup>-1</sup>) y LUM188 (3.10 t ha<sup>-1</sup>) fueron las de mejor comportamiento. Los índices de ISS e IT aunque son un criterio aceptable para identificar genotipos tolerantes a la sequía, no fueron los mejores debido a que no seleccionan los genotipos con mejor rendimiento de grano bajo condiciones de riego, por lo que también se debe de considerar el promedio del rendimiento de grano de ambientes limitantes y no limitantes de humedad con el fin seleccionar los mejores genotipos con tolerancia a sequía.

#### 4.7. LITERATURA CITADA

- Agrama, H. A. S. and Moussa, M. E. 1996. Mapping QTLs in breeding for drought tolerance in maize (*Zea mays* L.). *Euphytica* 91:89-97.
- Avendaño, A. C. H.; Trejo, L. C.; López C. C.; Molina, G. J. D.; Santacruz, V. A. y Castillo, G. F. 2005. Comparación de la tolerancia a la sequía de cuatro variedades de maíz (*Zea mays*) y su relación con la acumulación de prolina. Venezuela. *Interciencia* 30:560–564.
- Badu-Apraku, B.; Akinwale, R. O.; Ajala, S. O.; Menkir, A.; Fakorede, M. A. B. and Oyekunle, M. 2011. Relationships among traits of tropical early maize cultivars in contrasting environments. *Agronomy Journal* 103:717-729. doi:10.2134/agronj2010.0484.
- Bänziger, M.; Edmeades, G. O.; Beck, D. y Bellon, M. 2012. Mejoramiento para aumentar la tolerancia a sequía y a deficiencia de nitrógeno en el maíz: De la teoría a la práctica. México, D.F.: CIMMYT.
- Bolaños, J. and Edmeades, G. O. 1993. Eight cycles of selection for drought tolerance in lowland tropical Maize. I. Responses in grain yield, biomass, and radiation utilization. *Field Crops Research* 31:233-252. doi.org/10.1016/0378-4290(93)90064-T.
- Bruce, W. B.; Edmeades, G. O. and Barker, T.C. 2002. Molecular and physiological approaches to maize improvement for drought tolerance. *Journal of Experimental Botany* 53:13–25. doi.org/10.1093/jexbot/53.366.13.

- Castillo-Gutierrez, A. 2004. Drought tolerance and genetic diversity among tropical maize inbred lines. Doctoral Dissertation. University of Nebraska-Lincoln. Lincoln, NE, USA. 112 p.
- Comisión Nacional de Zonas Áridas. Unidad de Sequía, Desertificación y Proyectos Especiales (CONAZA). 2010. Boletín Divulgativo No. 2. [www.conaza.gob.mx](http://www.conaza.gob.mx) (diciembre de 2011).
- Edmeades, G. O.; Bolaños, J; Chapman, S. C.; Lafitte, H. R. and Bänzinger M. 1999. Selection improves drought tolerance in tropical maize populations: I. Gains in biomass, grain yield, and harvest index. *Crop Science* 39:1306-1315.
- Esparza, M. 2014. La sequía y escasez de agua en México. Situación actual y perspectivas futuras. *Secuencia* 89:195-219.
- Estrada, P. W.; Jerez M. E.; Nápoles, G. M. C.; Sosa, R. A.; Maceo, R. Y. C. y Cordoví, D. C. 2016. Respuesta de cultivares de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) a la sequía utilizando diferentes índices de selección. *Cultivos Tropicales* 37:79-84. [doi.org/10.13140/RG.2.1.5181.2082](https://doi.org/10.13140/RG.2.1.5181.2082).
- Fischer, K. S.; Edmeades, G. O. and Johnson, E. C. 1989. Selection for the improvement of maize yield under moisture-deficits. *Field Crops Research*. 22:227-243. [doi.org/10.1016/0378-4290\(89\)90094-4](https://doi.org/10.1016/0378-4290(89)90094-4).
- Fischer, R. A. and Maurer, R. 1978. Drought resistance in spring wheat cultivars. Grain yield responses. *Australian Journal of Agricultural Research* 29:897-912. [doi.org/10.1071/AR9780897](https://doi.org/10.1071/AR9780897).
- Golbashy, M.; Ebrahimi, M.; Khavari, K. S. and Choukan, R. 2010. Evaluation of drought tolerance of some corn (*Zea mays* L.) hybrids in Iran. *African Journal of Agricultural Research* 5:2714-2719.

- Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática (INEGI). 2008. Anuario Estadístico de Morelos. 1<sup>era</sup> edición, Editorial. Méx., Tomo II. P. 461.
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). 2017. Reporte estación. <http://clima.inifap.gob.mx/>. (diciembre 2017).
- López, S. E.; Tosquy, V. O. H.; Ugalde, A. F. J. y Acosta, G. J. A. 2008. Rendimiento y tolerancia a sequía de genotipos de frijol negro en el estado de Veracruz. *Revista Fitotecnia Mexicana* Número especial 31:35-39.
- Khalili, M.; Reza, N. M.; Pour, A. A. and Naseri, R. H. 2013. Effects of Drought Stress on Yield and Yield Components in Maize cultivars (*Zea mays* L.). *International Journal of Agronomy and Plant Production* 4:809-812.
- Messina, D. C.; Sinclair, R. T.; Hammer, L.G.; Curan, D.; Thompson, J.; Oler, Z.; Gho, C. and Cooper, M. 2015. Limited-transpiration trait may increase maize drought tolerance in the US corn belt. *Agronomy Journal* 107:1978–1986. doi:10.2134/agronj15.0016.
- Mohammadi, R. 2016. Efficiency of yield-based drought tolerance indices to identify tolerant genotypes in durum wheat. *Euphytica* 211:71–89.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura; Secretaria de Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación (FAO; SAGARPA). 2012. México: el sector agropecuario ante el desafío del cambio climático. México DF. 439 p.
- Ribaut, J. M.; Hoisington, D. A.; Deutsch, J. A.; Jiang, C.; and Gonzalez-de-Leon, D.. 1996. Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical

- maize. 1. Flowering parameters and the anthesis-silking interval. *Theoretical Applied Genetics* 92:887-896.
- Ribaut, J. M.; Jiang, C.; Gonzalez, d L. D.; Edmeades, G. O. and D. A. Hoisington, 1997. Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. 2. Yield components and marker-assisted selection strategies. *Theoretical Applied Genetics* 94:887-896.
- Rosielle, A.A. and Hamblin, J. 1981. Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress Environments. *Crop Science* 21:943-946. doi:10.2135/cropsci1981.0011183X002100060033x.
- Saini, H. S. and Westgate, M. E. 2000. Reproductive development in grain crops during drought. *Advances in Agronomy* 68:59-96. doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60843-3.
- Salinas, Z. C. A.; Lluch, B. D.; Hernández, V. S. y Lluch, C. D. B. 1998. La aridez en el noreste de México. Un análisis de variabilidad espacial y temporal. *Atmósfera* 11:29-44.
- Statistical Analysis System Institute (SAS). 2009. SAS user's guide. Statistics. Versión 8.2. SAS Inst. Cary, N. C.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2017. Cierre de la producción agrícola por estado SIAP-SAGARPA. [http://www.nube.siap.gob.mx/cierre\\_agricola/](http://www.nube.siap.gob.mx/cierre_agricola/). (Diciembre 2017).
- Servicio Meteorológico Nacional (SMN). 2017. Monitor de sequía en México. <http://smn.cna.gob.mx/es/climatologia/monitor-de-sequia/monitor-de-sequia-en-mexico>. (Enero, 2018).

- Shafiq, S.; Akram, N. A. and Ashraf, M. 2015. Does exogenously-applied trehalose alter oxidative defense system in the edible part of radish (*Raphanus sativus* L.) under water deficit conditions?. *Scientia Horticulturae* 185:68-75. doi.org/10.1016/j.scienta.2015.01.010.
- Srivastava, N. and Kumar, G. 2014. Influence of water deficit on morphological characteristics of green manure crop (Dhaincha) *Sesbania cannabina* Poir. *Unique Journal Pharmaceutical and Biological Sciences* 2:15–18.
- Stone, P. J.; Wilson, D. R. and Reid, J. B. 2001. Water deficit effects on sweet corn. I. water use, radiation use efficiency, growth, and yield. *Australian Journal of Agricultural Research* 52:103–113. doi.org/10.1071/AR99146.
- Trujillo, C. A. 2002. Guía para cultivar maíz bajo condiciones de riego en el estado de Morelos. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro de Investigación Regional del Centro Campo Experimental Zacatepec. 19 p.
- Walsh, B. 2001. Quantitative genetic. Encyclopedia of life sciences. Nature Publishing Group. (1-7).
- Westgate, M. E. and Boyer J. S. 1986. Reproduction at low silk and pollen water potentials in maize. *Crop Science* 26:951–956. doi:10.2135/cropsci1986.0011183X002600050023x.
- Zambrano, Z. E. E.; Limongi, A. J. R.; Alarcón, C. F. D.; Villavicencio, L. J. P.; Caicedo, V. M. B.; Egeuz, M. J. F. y Zambrano M. J. J. 2017. Interacción genotipo de híbridos de maíz bajo temporal en Manabí y los Ríos, Ecuador. *Espamciencia* 8:7–14.

## **CAPITULO V**

(Artículo Enviado a Acta Agrícola y Pecuaria)

### **ANÁLISIS DE LA VARIACIÓN Y ASOCIACIÓN ENTRE CARACTERES EN LÍNEAS S<sub>2</sub> DE MAÍZ EN RIEGO Y SEQUÍA**

Elizabeth Ibarra Sánchez<sup>1</sup>, Antonio Castillo Gutiérrez<sup>2\*</sup>, María Andrade Rodríguez<sup>1</sup>,  
Ramón Suárez Rodríguez<sup>4</sup>, María Eugenia Núñez Valdéz<sup>3</sup>, Oscar Gabriel Villegas  
Torres<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), Av. Universidad No. 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos. C.P. 62209. Tel. (777) 329 7981. <sup>2</sup>Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc-UAEM, <sup>3</sup>Centro de Investigación en Dinámica Celular-UAEM. <sup>4</sup>Centro de Investigación en Biotecnología-UAEM.

*\*Autor para correspondencia (antonio.castillo@uaem.mx)*

## 5.1. RESUMEN

Los objetivos de este estudio fueron: 1) Comparar el potencial agronómico entre líneas tolerantes y susceptibles, 2) Estimar el grado de variación genética y fenotípica en líneas S<sub>2</sub> segregantes, y 3) Evaluar el grado de asociación genética y fenotípica entre las variables en estudio. El germoplasma de estudio fueron 32 genotipos de maíz, los que se evaluaron en ambientes de riego y sequía inducida en Ayala, Morelos, México. Se registraron siete variables morfológicas. El rendimiento de grano (RG) de las líneas tolerantes superó al rendimiento de las susceptibles, tanto en el ambiente de sequía como en el de riego con valores de 89.7 y 20.5 %, respectivamente. La estimación de la varianza genético-aditiva fue ligeramente menor (4.7 %) en el ambiente de sequía que en el de riego. Los valores de las correlaciones genéticas y fenotípicas de la FF y ASI con el RG, justifica el uso de estos caracteres en la selección indirecta para alto rendimiento en ambientes de déficit hídrico.

**Palabras clave:** Estrés hídrico, parámetros genéticos, correlaciones genéticas

## 5.2. ABSTRAC

The objectives of this study were to: 1) Compare agronomic potential between tolerant and susceptible lines, 2) Estimate the degree of genetic and phenotypic variation in segregating S2 lines, and 3) Assess the degree of genetic and phenotypic association between the variables under study. The study germplasm was 32 maize genotypes, which were evaluated in irrigation and drought-induced environments in Ayala, Morelos, Mexico. Seven morphological variables were recorded. The grain yield (RG) of the tolerant lines exceeded the yield of the susceptible ones, both in the drought environment and the irrigation environment with values of 89.7 and 20.5 %, respectively. The estimate of genetic-additive variance was slightly (4.7%) less in the drought environment than in irrigation. The values of the genetic and phenotypic correlations of FF and ASI with RG, justifies the use of these characters in indirect selection for high performance in hydric deficit environments.

**Keywords:** Water stress, genetic parameters, genetic correlations.

### 5.3. INTRODUCCIÓN

El maíz es uno de los cultivos que más se produce en México, su nivel de importancia agronómica radica tanto en la superficie dedicada al cultivo, como por su amplia adaptación a diversas condiciones agroclimáticas por la gran diversidad genética existente, lo que permite ser cultivado en casi todo el territorio nacional. En el periodo 2000-2015, a nivel nacional el promedio de consumo anual de maíz fue de 28 millones de toneladas, en tanto que México solo produce en promedio 21 millones de toneladas, por lo que fue necesaria la importación de maíz para satisfacer la demanda nacional (Madueño, 2017). El rango de consumo de maíz per cápita al año, es de 196.4 a 254 kg, lo que destaca que la producción en México no es suficiente para satisfacer la demanda de este cereal. En Morelos, el año 2018 se destinaron aproximadamente 38 mil hectáreas a la producción de maíz, estableciéndose la mayor superficie en el ciclo primavera-verano, con 35 mil hectáreas (SIAP, 2018; SAGARPA, 2017).

La sequía es un evento meteorológico aleatorio, que consiste en la deficiencia de lluvia por un periodo de tiempo suficientemente grande para causar una reducción significativa en la humedad del suelo, lo que ocasiona estrés por falta de agua en las plantas (Bravo *et al.*, 2006; Contreras, 2005; Zargar *et al.*, 2011). En investigaciones de campo relacionadas con tolerancia a la sequía en maíz, entre los años 1980 y 2015 se demostró que hay disminución del 39.9 % en el rendimiento de grano, cuando se reduce en un 40 % la disponibilidad de agua. Se ha establecido que el maíz es altamente susceptible a la sequía en la etapa fenológica previa y durante la fase reproductiva (Daryanto *et al.*, 2016).

El fitomejoramiento para tolerancia a la sequía en poblaciones de maíz tropical ha sido posible mediante selección recurrente, usando experimentos con sequía inducida y seleccionando para alto rendimiento, corto ASI, espiga pequeña, hojas erectas, y alto nivel para mantener las hojas verdes bajo sequía (Bolaños y Edmeades, 1993;

Chapman y Edmeades, 1999; Edmeades *et al.*, 1999;). Sin embargo, en programas de desarrollo de híbridos de maíz, desarrollar líneas parentales con tolerancia a la sequía es de gran relevancia, debido a que híbridos modernos de maíz, han mostrado mejor comportamiento bajo condiciones de déficit de agua; este aspecto se atribuye a líneas parentales con mejor comportamiento per se y a la estabilidad del rendimiento de híbridos a través de ambientes limitante y no limitantes de humedad (Duvick 1997; 2001; Tollenaar y Lee, 2002).

Es importante obtener estimaciones del factor genético y ambiental, especialmente en la expresión de las diferencias fenotípicas entre genotipos pertenecientes a una población. Por lo que, los componentes de la varianza genética, como son la varianza aditiva, la de dominancia y la determinada por efectos epistáticos, la de mayor importancia es la aditiva, debido a que es responsable del parecido entre parientes, determinando las propiedades genéticas de una población, como lo son la heredabilidad, la correlación genética entre caracteres y por consecuencia la ganancia genética a la selección (Falconer, 1984). Por otro lado, la efectividad de la selección depende de la heredabilidad de los caracteres; la heredabilidad es definida como la porción de la varianza fenotípica que es debida a la varianza genética, y cuando es posible estimar la varianza genético-aditiva, la estimación de la heredabilidad es referida como en “sentido estricto” (Fehr, 1993).

La estrategia común en el mejoramiento genético, para generar tolerancia a sequía en maíz, consiste en seleccionar genotipos que muestren diferencia mínima en el rendimiento de grano entre ambientes de riego y sequía (Ramírez-Vallejo, 1992). La incidencia irregular de los periodos naturales de sequía, ocasiona una respuesta inconsistente a través de localidades y años, debido a una fuerte interacción genético-ambiental. Esta limitación metodológica se acentúa por la falta de criterios de selección prácticos y confiables en los programas de mejoramiento genético para sequía. Por lo que, se han propuesto diferentes índices que permiten discriminar a genotipos tolerantes de susceptibles, los que fundamentalmente son construidos con base en el rendimiento de los genotipos bajo riego y sequía. Entre los índices más utilizados se

encuentra el propuesto por Fischer y Maurer (1978), la media geométrica (Fernández, 1992), y los índices de tolerancia a sequía y de productividad media (Rosielle y Hamblin, 1981). Considerando la presencia de alta interacción genotipo-ambiente en evaluaciones de germoplasma en ambientes de riego y sequía, es necesario utilizar un buen control de humedad en el suelo, adecuado diseño experimental y suficientes repeticiones para garantizar un nivel de estimación de efectos por la sequía. La presente investigación, se realizó con el propósito de estimar la variación genética responsable de la respuesta en condiciones de riego y sequía, de un grupo de líneas segregantes  $S_2$  de maíz, y tuvo como objetivos: 1) comparar el potencial agronómico de líneas tolerantes y susceptibles a la sequía por medio de siete características morfológicas, 2) estimar el grado de variación genética y fenotípica en el grupo de líneas  $S_2$  segregantes de maíz, usando los parámetros genéticos de las variables medidas, y 3) evaluar el grado de correlación genética y fenotípica entre las variables de estudio.

## 5.4. MATERIALES Y MÉTODOS

El germoplasma de estudio estuvo constituido por 32 genotipos de maíz, de los cuales 28 fueron líneas S<sub>2</sub> segregantes del cruzamiento entre las líneas Ac7643 y B39 (líneas contrastantes en tolerancia a sequía y rendimiento de grano); así como las líneas Ac7729 (línea susceptible) y T-43 (línea tolerante), como testigos. Las líneas Ac7729 y Ac7643 fueron desarrolladas por el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), en tanto que B39 y T-43 fueron liberadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

Las 32 líneas de maíz se evaluaron en dos experimentos de campo, conducidos en la Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc, dependiente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos; la que se ubica a los 18° 43' de latitud Norte y a los 98° 54' de longitud Oeste, la altitud de dicha localidad es de 1250 m (INEGI, 2017). Los experimentos se establecieron en el ciclo agrícola otoño-invierno 2017/2018, en experimentos contiguos; uno de los cuales se condujo en riego y el otro en sequía inducida. Inicialmente el manejo de la humedad de ambos experimentos, fue con cinco riegos con una frecuencia de 12 días; en el experimento de riego, se continuó con la misma frecuencia de irrigación durante el resto del ciclo biológico, en tanto que, en el experimento de sequía, a partir del quinto riego se dejó de regar por un periodo de 30 días, posterior a este se aplicó un riego cada tercer surco, dejándose de regar nuevamente por un periodo más de 18 días, para finalmente continuar con los riegos cada 12 días. El sistema de riego fue por gravedad para los dos experimentos. Se instalaron dos tensiómetros por experimento, con el propósito de monitorear el nivel de humedad del suelo durante el periodo de aplicación de la sequía.

El diseño utilizado en ambos experimentos, fue Bloques Completos al Azar con cuatro repeticiones por entrada. Las líneas se establecieron en unidades experimentales de un surco de 4 m de longitud, a una distancia entre surcos de 0.75 m, y a distancia entre plantas de 0.20 m. La siembra se realizó de manera manual depositando dos

semillas por punto, para en la etapa fenológica de V3 realizar un aclareo, dejando una planta por punto de siembra. La dosis de fertilización fue 170-70-00 en dos aplicaciones; la primera al momento de la siembra con la dosis de 100-70-00, y en la segunda se proporcionó el resto del nitrógeno, cuando las plantas se encontraron en la etapa V6 (Ritchie *et al.*, 1992). La conducción agronómica de los experimentos, se llevó a cabo con base a la Guía Técnica del INIFAP para el cultivo de maíz en Morelos, y de acuerdo a las recomendaciones para maíz de riego (Trujillo, 2002).

Las características evaluadas en los experimentos fueron: floración masculina (FM), floración femenina (FF), intervalo antesis-emergencia de estigmas (ASI), altura de planta (AP), altura de mazorca (AM), peso de 100 granos (P100G) y el rendimiento de grano (RG). Los datos de las variables de respuesta, se sometieron a análisis de varianza bajo el diseño de Bloques Completos al Azar, tanto de forma individual (por ambiente de humedad) como combinada (riego-sequía), se realizó una comparación múltiple de medias mediante el procedimiento de Diferencia Mínima Significativa ( $\alpha = 0.05$ ). Utilizando las esperanzas de cuadrados medios del análisis de varianza bajo un diseño de bloques completos al azar (Cuadro 5.1), se determinaron los valores de los parámetros genéticos y correlaciones entre caracteres por ambiente de prueba.

**Cuadro 5.1.** Análisis de varianza individual, considerando un modelo aleatorio.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>PCM<sub>XY</sub></b>	<b>E(CM)</b>
Repeticiones	$r - 1$			
Líneas	$\ell - 1$	M <sub>1</sub>	PCM <sub>1</sub>	$\sigma^2 + r \sigma_L^2$
Error	$(r - 1)(\ell - 1)$	M <sub>2</sub>	PCM <sub>2</sub>	$\sigma^2$

FV = fuentes de variación; GL = grados de libertad; CM = cuadrados medios; PCM<sub>XY</sub> = productos cruzados medios entre las variables X e Y; E(CM) = esperanza de cuadrados medios, r = repeticiones.

La estimación de los parámetros genéticos se realizó por medio de las fórmulas siguientes:

$$\sigma_G^2 = (M_1 - M_2)/r \quad (\text{varianza genética})$$

$$\sigma_F^2 = M_1/r \quad (\text{varianza fenotípica})$$

$$H^2 = \sigma_G^2 / \sigma_F^2 \quad (\text{heredabilidad en sentido amplio})$$

$$CV_G = (\sigma_G / \bar{x}) 100 \quad (\text{coeficiente de variación genética})$$

$$CV_F = (\sigma_F / \bar{x}) 100 \quad (\text{coeficiente de variación fenotípica})$$

$$r_{G_{xy}} = \text{Cov } G_{xy} / s_{G_x} s_{G_y} \quad (\text{Coeficiente de correlación genética})$$

$$r_{F_{xy}} = \text{Cov } F_{xy} / s_{F_x} s_{F_y} \quad (\text{Coeficiente de correlación fenotípica})$$

**Dónde:**

$\sigma_G$ : desviación estándar genética;  $\sigma_F$ : desviación estándar fenotípica;  $\text{Cov } G_{xy}$ : covarianza genética entre la variables X e Y;  $\text{Cov } F_{xy}$ : covarianza fenotípica entre la variables X e Y;  $s_{G_x}$ : desviación estándar genética; y  $s_{F_x}$ : desviación estándar fenotípica.

Los análisis estadísticos se realizaron usando el software Statistical Analysis System (SAS, 2009).

## 5.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis de varianza (Cuadro 5.2) detectaron en las fuentes de variación de Ambientes, Líneas y de la Interacción Línea x Ambiente, diferencias estadísticas altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ) en la totalidad de las variables. En cuanto al tipo de interacción genético-ambiental, se identificó para todas las variables de respuesta, el tipo de interacción de diferencias en magnitud; lo que significa que en general los genotipos mostraron una mayor expresión fenotípica en el ambiente de riego, que en sequía, con excepción del intervalo antesis-emergencia de estigmas, donde en el ambiente de sequía, fue más prolongado. Los coeficientes de variación fluctuaron entre 2.14 y 28.26 %, estos valores correspondieron a floración femenina y rendimiento de grano, respectivamente.

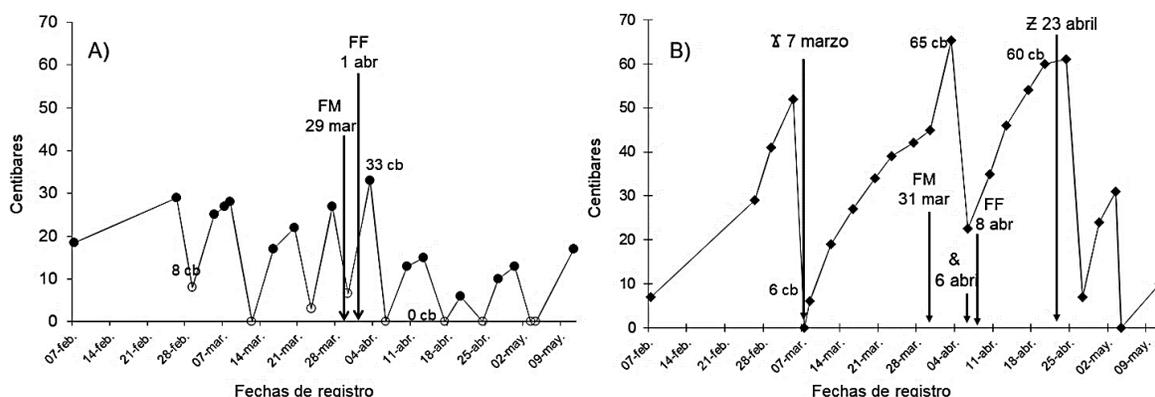
**Cuadro 5.2.** Cuadros medios de siete características morfológicas de líneas S<sub>2</sub> de maíz, evaluadas en riego y sequía en Ayala, Morelos.

FV	Amb	Reps/Amb	Líneas	Lín x Amb	Error	CV (%)
GL	1	6	31	31	186	
FM d	226.879**	5.868ns	30.917**	16.355**	4.519	2.75
FF d	3018.130**	6.686*	22.9444**	15.016**	3.100	2.14
ASI ¶	2.013**	0.004ns	0.014**	0.012**	0.003	4.42
AP cm	57052.000**	424.379**	1260.086**	255.738**	148.782	9.62
AM cm	474.423ns	557.922**	807.496**	180.412**	63.820	14.43
P100G g	40.323ns	7.679*	47.513**	24.180**	3.444	12.32
RG t ha <sup>-1</sup>	81.961**	0.144ns	0.956**	0.493**	0.088	28.26

FV = Fuente de variación; GL = Grados de libertad; FM = Floración masculina; FF = Floración femenina; ASI = Intervalo antesis-emergencia de estigmas; AP = Altura de planta; AM = Altura de mazorca; P100G = Peso de 100 Granos; RG = Rendimiento de Grano; NS = No significativo; \* = Significativo a 5 %; \*\* = Significativo a 1 %.

Las diferencias estadísticas entre ambientes se atribuyen a los efectos de la disponibilidad de agua en el suelo (Figura 5.1), lo que es apoyado por el comportamiento de las lecturas de los tensiómetros durante el periodo de mayor

susceptibilidad del maíz a la sequía (siete días antes y 14 días después de la floración). En el experimento de riego durante el periodo mencionado, el rango de lecturas de los tensiómetros fluctuó desde 15 hasta 33 centibares; mientras que, en el experimento de sequía para el mismo periodo, las lecturas variaron desde 38 hasta 65 centibares de presión, lo que significa un mayor nivel de tensión hídrica. Debido a la variación aleatoria de la precipitación que puede prevalecer entre ambientes, las evaluaciones agronómicas de germoplasma de maíz requieren realizarse a través de ambientes contrastantes, lo que permite estimar con mayor precisión los componentes genéticos y separar el efecto genético-ambiental (Alejos *et al.*, 2006; Badu-Apraku *et al.*, 2011).



**Figura 5.1.** Lectura de tensiómetros instalados en los ambientes de evaluación, riego (A) y sequía (B), fecha del promedio floración masculina (FM), fecha del promedio de floración femenina (FF), fecha del ultimo riego último riego (X), fecha de aplicación de medio riego (&), y fecha de reanudación de riegos (Z), centibares (cb).

Con relación a las diferencias estadísticas observadas entre las líneas, el resultado reveló presencia de alta variabilidad genética entre el germoplasma de estudio, lo que resulta a partir de múltiples combinaciones alélicas en una población segregante (Agrama y Moussa, 1996; Ribaut *et al.*, 1996). La presencia de interacción genotipo-ambiente en todas las variables medidas, se puede atribuir al grado de variación

genética entre líneas que componen la población segregante, a lo contrastante de los ambientes y al efecto diferencial que los factores impredecibles producen en los genotipos (Fehr, 1993).

Con base en el rendimiento de grano en sequía inducida, se seleccionaron cinco líneas con mayor y menor rendimiento de grano (Cuadro 5.3), en este cuadro se observa que en la variable de rendimiento de grano (RG) las líneas tolerantes, mostraron una

**Cuadro 5.3.** Promedios en variables críticas en Líneas S<sub>2</sub> segregantes de maíz, con mayor y menor rendimiento de grano en condiciones de riego y sequía inducida, en Ayala, Morelos.

Línea	RG		FM		ASI		AP	
	t ha <sup>-1</sup>		d		d		cm	
	Sequía	Riego	Sequía	Riego	Sequía	Riego	Sequía	Riego
Líneas de mayor rendimiento								
LUM78	1.357	1.977	73	73	8	3	109	131
LUM28	1.221	1.302	75	76	6	3	91	110
LUM38	0.821	1.402	78	76	6	3	97	130
LUM1	0.782	2.046	74	76	11	3	114	129
LUM73	0.779	2.519	78	74	9	3	113	161
<b>Promedio</b>	<b>0.992</b>	<b>1.849</b>	<b>76</b>	<b>75</b>	<b>8</b>	<b>3</b>	<b>105</b>	<b>132</b>
Líneas de menor rendimiento								
LUM33	0.160	1.257	77	79	7	2	121	145
LUM108	0.141	1.952	75	76	12	2	119	142
LUM44	0.101	1.797	76	77	7	2	106	135
LUM144	0.096	1.042	78	75	12	3	124	146
LUM10	0.015	1.301	82	76	8	3	95	132
<b>Promedio</b>	<b>0.102</b>	<b>1.470</b>	<b>78</b>	<b>77</b>	<b>9</b>	<b>2</b>	<b>113</b>	<b>140</b>
<b>DMS<sub>(0.05)</sub></b>	<b>0.188</b>	<b>0.557</b>	<b>3.9</b>	<b>1.5</b>	<b>3.4</b>	<b>0.9</b>	<b>19.5</b>	<b>14.7</b>

RG = Rendimiento de Grano; FM = Floración masculina; ASI = Intervalo antesis-emergencia de estigmas; AP = Altura de planta.

reducción del 46.3 % de su rendimiento por causa de la sequía, en tanto que en el grupo de las líneas susceptibles la reducción fue significativamente mayor, registrando un 93.1 % de efecto. En lo referente a la variable de floración masculina (FM), fue similar el comportamiento tanto en líneas tolerantes como susceptibles; mientras que, el intervalo anthesis-emergencia de estigmas (ASI) las líneas tolerantes mostraron un retraso promedio de 5 días en el ambiente de sequía, y las susceptibles en promedio expresaron un retraso de 7 días en la misma variable. La respuesta observada en la altura de planta, las tolerantes redujeron en 20.5 % su altura por causa de la sequía, en tanto que las susceptibles manifestaron una reducción del 19.3%. Estos resultados confirman que el grupo de líneas evaluado, presentan un alto grado de variación en respuesta a las condiciones de humedad e indican que el valor de la varianza fenotípica es altamente afectado por el ambiente de crecimiento, particularmente por la disponibilidad del agua (Traschel *et al.*, 2016).

Los resultados de las estimaciones de los parámetros genéticos y coeficientes de variación genética y fenotípica de las líneas evaluadas en riego se muestran en el (Cuadro 5.4); donde se observa que la heredabilidad promedio a través de las siete variables es del 85%, indicando este porcentaje la cantidad de variación fenotípica,

**Cuadro 5.4.** Parámetros genéticos, coeficientes de variación genético-aditiva y fenotípica para el grupo de líneas S<sub>2</sub> de maíz, evaluadas en riego, en Ayala, Morelos.

Parámetro	FM d	FF d	ASI d	AP cm	AM cm	P100G g	RG t ha <sup>-1</sup>
$\hat{\sigma}_A^2$	4.13	2.95	0.21	165.58	107.28	10.61	0.20
$\hat{\sigma}_F^2$	4.43	3.29	0.32	191.56	120.87	11.41	0.24
$\hat{h}^2$	0.93	0.90	0.65	0.86	0.89	0.93	0.84
CV <sub>A</sub> (%)	2.66	2.18	19.89	9.08	18.26	22.22	27.98
CV <sub>F</sub> (%)	2.75	2.31	24.65	9.78	19.38	23.04	30.56

$\sigma_A^2$  = varianza genética,  $\sigma_F^2$  = varianza fenotípica,  $h^2$  = heredabilidad en sentido estricto, CV<sub>A</sub> = coeficiente de variación genético-aditiva, CV<sub>F</sub> = coeficiente de variación fenotípica,

debida a la varianza genético-aditiva. En cuanto al coeficiente de variación fenotípica, los valores fluctuaron de 2.31 en floración femenina hasta 30.56 % en la variable de rendimiento de grano; en tanto que, en los valores de los coeficientes de variación genético-aditiva de los mismos caracteres, el rango obtenido fue desde 2.18 % hasta 27.98 %, correspondiendo a la floración femenina y al rendimiento de grano, respectivamente.

Respecto a los valores de los mismos parámetros genéticos y coeficientes de variación, para el ambiente de sequía inducida (Cuadro 5.5), los valores de la heredabilidad promedio fue del 81 %, valor ligeramente menor que en el ambiente de riego, lo que indica que la expresión de la varianza genético-aditiva se reduce en el ambiente de sequía. Los valores de los coeficientes de variación fenotípica fueron

**Cuadro 5.5.** Parámetros genéticos y coeficientes de variación genética y fenotípica para el grupo de líneas S<sub>2</sub> de maíz, evaluadas en sequía inducida, en Ayala, Morelos.

Parámetro	FM	FF	ASI	AP	AM	P100G	RG
	D	d	d	cm	cm	g	t ha <sup>-1</sup>
$\hat{\sigma}_A^2$	5.43	4.99	5.08	138.99	107.78	5.59	0.11
$\hat{\sigma}_F^2$	7.39	6.19	6.62	187.39	126.11	6.51	0.12
$\hat{h}^2$	0.73	0.80	0.77	0.74	0.85	0.85	0.96
CV <sub>A</sub> (%)	2.98	2.61	30.92	10.54	19.22	15.29	70.28
CV <sub>F</sub> (%)	9.44	7.24	90.77	167.55	233.49	42.14	24.74

$\hat{\sigma}_A^2$  = varianza genética,  $\hat{\sigma}_F^2$  = varianza fenotípica,  $\hat{h}^2$  = heredabilidad en sentido estricto, CV<sub>A</sub> = coeficiente de variación genética, CV<sub>F</sub> = coeficiente de variación fenotípica, FM = Floración masculina; FF = Floración femenina; ASI = Intervalo anthesis-emergencia de estigmas; AP = Altura de planta; AM = Altura de mazorca; P100G = Peso de 100 Granos; RG = Rendimiento de Grano.

desde 2.31 % (floración femenina), hasta 24.74 % (rendimiento de grano). Los valores estimados de la varianza genético-aditiva para los caracteres medido, permite determinar que en la población base de la selección, predominan genes de acción génica aditiva, que son los responsables de las respuestas genéticas significativas a la selección (Rovaris *et al.*, 2011), justificando la selección de líneas S<sub>2</sub> tolerantes a sequía. En cuanto a los valores de varianza genético-aditiva, estos resultaron mayores a la estimación reportada en otro estudio con líneas S<sub>1</sub> de maíz (Rebolloza *et al.*, 2016), indicando una mayor varianza genética-aditiva en la población usadas en el presente estudio.

Los resultados del análisis de correlación fenotípica y genética, entre el rendimiento de grano y resto de variables (Cuadro 5.6), determinaron que en condiciones de riego, tanto la floración masculina (FM) como la femenina (FF) estuvieron correlacionadas de manera negativa con el rendimiento de grano, siendo la correlación intermedia con una alta significancia estadística ( $P < 0.01$ ), el intervalo anthesis-emergencia de estigmas (ASI) no mostró correlación en ambos ambientes; sin embargo, las variables de altura de planta (AP) y el peso de 100 granos (P100G) solo se correlacionaron genéticamente con el rendimiento de grano (0.47\*\* y 0.70\*\*, respectivamente). Las correlaciones en el ambiente de sequía, mostraron que únicamente la floración femenina (FF) y el intervalo anthesis-emergencia de estigmas (ASI) resultaron estar asociadas tanto genéticamente como fenotípicamente con el rendimiento de grano (RG). La FF exhibió valores de -0.60\*\* y -0.54\*\* en la correlación genética y fenotípica, respectivamente; en tanto que para el ASI los valores y sentido de correlación fueron de -0.44\*\* y -0.36, para la correlación genética y fenotípica, respectivamente. Los valores de las correlaciones genéticas y fenotípicas detectadas bajo condiciones de sequía entre el rendimiento de grano (RG) y la floración femenina y con el intervalo anthesis-emergencia de estigmas, son de gran importancia, debido a que se pueden utilizar para realizar selección indirecta para rendimiento de grano en sequía. Los valores negativos de las correlaciones, tienen el significado de que en general las líneas S<sub>2</sub> evaluadas demuestran que entre más corto es el ASI o menor son los días a floración femenina, mayor es el rendimiento de grano.

**Cuadro 5.6.** Correlaciones fenotípicas y genéticas entre las variables medidas y el rendimiento de grano en las líneas S<sub>2</sub> de maíz, evaluadas en los ambientes de riego y sequía inducida en Ayala, Mor.

Variable	RG (t ha <sup>-1</sup> )			
	Riego		Sequía	
	r <sub>Fxy</sub>	r <sub>Gxy</sub>	r <sub>Fxy</sub>	r <sub>Gxy</sub>
FM (d)	-0.43**	-0.46**	-0.16ns	-0.15ns
FF (d)	-0.41*	-0.50**	-0.54**	-0.60**
ASI (d)	-0.09ns	4.57	-0.36*	-0.44**
AP (cm)	-0.07ns	0.47**	-0.07ns	-0.10ns
AM (cm)	-0.22ns	0.23ns	-0.22ns	-0.25ns
P100G (g)	0.06ns	0.70**	0.06ns	0.04ns

\*\* = Significativo a 1 %; \* = Significativo a 5 %; ns = No significativo; RG = Rendimiento de grano; r<sub>Fxy</sub> = Coeficiente de correlación fenotípica; r<sub>Gxy</sub> = Coeficiente de correlación genética.

En un estudio con familias F<sub>2:3</sub> segregantes de maíz, el RG bajo sequía severa, se correlacionó con el ASI con un valor de -0.39\*\*, valor muy similar al estimado en éste estudio (Edmeades *et al.*, 1999; Ribaut *et al.*, 1997).

## 5.6. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio, permiten concluir que tanto en el grupo de líneas tolerantes y susceptibles existe un alto grado de variación genética y fenotípica en todas las características medidas. Sin embargo, para la característica de ASI en el ambiente de sequía inducida, se detectó un incremento del 73.5 % con respecto al de riego. Considerando las características de importancia del RG y AP, el efecto de la sequía en ellas, indujo una reducción del 66.2 y 19.3 %, respectivamente. La heredabilidad para RG en riego, fue de 12.5 % más baja que en sequía. En cuanto, a las correlaciones genéticas y fenotípicas encontradas el RG con FF y ASI, permite usar a dichas características para realizar selección indirecta para incrementar el rendimiento de grano bajo sequía, sobre todo porque la FF y el ASI poseen relativos altos valores de heredabilidad en sequía.

## 5.7. LITERATURA CITADA

- Agrama, H.A.S.; and M.E. Moussa. 1996. Mapping QTLs in breeding for drought tolerance in maize (*Zea mays* L.). *Euphytica* 91:89-97.
- Alejos, H.; Monasterio, P. y Rea. R. 2006. Análisis de la interacción genotipo ambiente para el rendimiento de maíz en la región maicera del estado Yaracuy, Venezuela. *Agronomía Tropical* 56:370-384.
- Badu-Apraku, B.; Oyekunle M.; Akinwale R.O; and Fontem Lum A. 2011. Combining ability of early-maturing white maize inbreds under stress and nonstress environments. *Agronomy Journal* 103:544-557. doi:10.2134/agronj2010.0345
- Bolaños, J.; and G. O. Edmeades 1993. Eight cycles of selection for drought tolerance in lowland tropical maize. II. Responses in reproductive behavior. *Field Crops Research* 31:253-268
- Bravo, L. A. G; H. Salinas G.; y A. Rumayor R. 2006. Sequía: Vulnerabilidad, impacto y tecnología para afrontarla en el Norte Centro de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias Centro de Investigación Regional Norte-Centro Campo Experimental Zacatecas. México 1-300 p.
- Chapman, S.C.; and G.O. Edmeades. 1999. Selection improves drought tolerance in tropical maize populations. II. Direct and correlated responses among secondary traits. *Crop Science* 39:1315-1324.
- Daryanto, S.; L. Wang; and J. Pierre-André. 2016. Global synthesis of drought effects on maize and wheat production. *PLoS ONE* 5:1-15. doi:10.1371/journal.pone.0156362

- Duvick, D.N. 1997. What is yield? p. 332-335. *In*. G.O. Edmeades, M. Banziger, H.R. Mikelson, and C.B. Peña-Valdivia (ed.) Developing drought and low-N tolerant lines. El Batán, México. CIMMYT.
- Duvick, D.N. 2001. Biotechnology in the 1930s: the development of hybrid maize. *Nature Reviews of Genetics* 2:69-74.
- Edmeades, G. O., J. Bolaños, and H. R. Lafitte. 1992. Progress in breeding for drought tolerance in maize. p. 93-111. *In*. D. Wilkinson (ed.). Proc. Annu. Corn and Sorghum Ind. Res. Conf., 47<sup>th</sup>, Chicago 9-10 Dec. 1992. ASTA, Washington. D.C.
- Falconer, D. S. 1984. Introducción a la Genética Cuantitativa. F. Márquez S. (trad) Editorial CECSA. 14° imp. México. 430 p
- Fehr, W. R. 1993. Principles of cultivar development. Iowa State University Press V 1. Ames Iowa USA. 219-245 pp.
- Fernandez, G. C. J. 1992. Effective selection criteria for assessing stress tolerance. *In*: Kuo, C.G. (Ed.), Proceedings of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and Other Food Crops in Temperature and Water Stress, Publication, Tainan, Taiwan.
- Fischer, R. A.; Maurer, R. 1978. Drought resistance in spring wheat cultivars. Grain yield responses. *Australian Journal of Agricultural Research*. 29:897-912.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía e Informática (INEGI). 2017. Anuario estadístico y geográfico de Morelos 2017. México 504 pp.

- Madueño, M. J. 2017. La fertilización nitrogenada en maíz y su impacto ambiental. *Enlace la revista de la agricultura de conservación* 40:38-41.
- Ramírez-Vallejo, P. 1992. Identification and estimation of heritabilities of drought related resistance traits in dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Ph. D. Diss. Michigan State Univ. East Lansing, Mi. USA. 320 p.
- Rebolloza, H. H.; A. Castillo G.; V.E. Carapia R.; M. Andrade R.; O.G. Villegas T.; M.E. Núñez V.; R. Suárez R.; y F. Perdomo R. 2016. Estimación de parámetros genéticos y selección de líneas S1 en una población segregante de maíz tropical. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7:1893-1904.
- Ribaut, J. M.; D. A. Hoisington; J. A. Deutsch; C. Jiang; and D. Gonzalez-de-Leon. 1996. Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. 1. Flowering parameters and the anthesis-silking interval. *Theoretical. Applied Genetics* 92:887-896.
- Ribaut, J. M.; Jiang C.; Gonzalez d L. D.; Edmeades, G. O.; and Hoisington, D. A. 1997. Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. 2. Yield components and marker-assisted selection strategies. *Theoretical and Applied Genetics* 94:887-896.
- Ritchie, S. W.; J. J. Hanway; and G. O. Benson. 1992. How a corn plant develops. Special Report No. 8. Iowa State University of Science and Technology. Cooperative Extension Service Ames, Iowa.
- Rosielle, A.A. and Hamblin J. 1981. Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress Environments. *Crop Science* 21:943-946.
- Secretaría Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2017. Planeación Agrícola Nacional 2017-2030. México. 28 pp.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquerac (SIAP). 2018. Cierre de la producción agrícola por estado SIAP-SAGARPA. [http://www.nube.siap.gob.mx/cierre\\_agricola/](http://www.nube.siap.gob.mx/cierre_agricola/). (Diciembre 2018).

Tollenar, M., and E.A. Lee. 2002. Yield potential, yield stability and stress tolerance in maize. *Field Crops Research* 75:161-169.

Trachsel, S.; D. Sun; F. M. SanVicente; H. Zheng; G. N. Atlin; E. A. Suarez; R. Babu; and X. Zhang. 2016. Identification of QTL for early vigor and stay-green conferring tolerance to drought in two connected advanced backcross populations in tropical maize (*Zea mays* L.). *PLoS ONE* 3:1-22. doi:10.1371/journal.pone.0149636.

Trujillo, C. A. 2002 Guía para cultivar maíz bajo condiciones de riego en el estado de Morelos. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro de Investigación Regional del Centro Campo Experimental Zacatepec. 19 p.

Zargar, A.; R. Sadiq; B. Naser; and F. I. Khan. 2011. A review of drought indices. *Environmental Reviews* 19:333–349.

## CAPITULO VI

### ASOCIACIÓN ENTRE LA EXPRESIÓN FENOTÍPICA Y EL PATRÓN ELECTROFORÉTICO DE MARCADORES SSR EN LÍNEAS SEGREGANTES S<sub>2</sub> DE MAÍZ EN SEQUÍA

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), Av. Universidad No. 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos. C.P. 62209. Tel. (777) 329 7981. <sup>2</sup>Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc-UAEM, <sup>3</sup>Centro de Investigación en Dinámica Celular-UAEM. <sup>4</sup>Centro de Investigación en Biotecnología-UAEM.

*\*Autor para correspondencia (antonio.castillo@uaem.mx)*

## 6.1. RESUMEN

La planta de maíz utiliza mecanismos complejos de regulación genética en respuesta al estrés por sequía, lo que dificulta identificar genotipos que manifiesten tolerancia a la sequía estable en diferentes niveles de estrés hídrico, por lo que la selección asistida por marcadores es una herramienta que facilita distinguir genotipos tolerantes al déficit hídrico. Los objetivos de esta investigación fueron: 1) Determinar la respuesta fenotípica a condiciones de riego y sequía inducida, de un grupo de líneas S<sub>2</sub> segregantes de maíz por medio de siete características cuantitativas, y 2) Evaluar la asociación estadística entre la expresión fenotípica contrastante de tres caracteres morfológicos y los patrones electroforéticos de marcadores SSR. El germoplasma base fueron 20 líneas S<sub>2</sub>, los dos progenitores y dos líneas testigos. Las 24 líneas se evaluaron en el campo experimental de la Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc, perteneciente a la Universidad Autónoma del Estado Morelos, durante el ciclo agrícola otoño–invierno 2017/2018 en riego y sequía, mediante el uso del diseño de Bloques Completos al Azar con cuatro repeticiones. Las características medidas fueron floración masculina, floración femenina, intervalo anthesis-emergencia de estigmas, altura de planta y mazorca, peso de 100 granos y rendimiento de grano. Se realizó un análisis de varianza, comparación de medias, análisis de correlación y contrastes no ortogonales. Se probaron 16 marcadores SSR para identificar polimorfismo entre los progenitores, identificando al marcador bnlg1863 como polimórfico. Los análisis de varianza detectaron alta variación fenotípica en las características medidas. Las líneas que se identificaron como susceptibles tuvieron una disminución del rendimiento de grano en un 81.5 % con respecto a las líneas tolerantes bajo condiciones de sequía. Se obtuvieron correlaciones intermedias y altamente significativas entre el rendimiento de grano y floración femenina y el peso de 100 granos. El patrón de bandeo generado por el marcador bnlg1863 identificó asociación fenotípica altamente significativa con el rendimiento de grano y floración femenina.

**Palabras clave:** *Zea mays*, estrés hídrico, microsatélites.

## 6.2. ABSTRACT

The maize plant uses complex genetic regulation mechanisms in response to drought stress, making it difficult to identify genotypes that express stable drought tolerance at different levels of water stress, so marker-assisted selection is a tool that makes it easy to distinguish genotypes tolerant to water deficits. The objectives of this research were: 1) To determine the phenotypic response under irrigation and induced drought conditions, of a group of S<sub>2</sub> segregating lines of maize by means of seven quantitative traits, and 2) To evaluate the statistical association between the contrasting phenotypic expression of three morphological traits and the electrophoretic patterns of SSR markers. The base germplasm was 20 S<sub>2</sub> lines, the two parents and two control lines. The 24 lines were evaluated in the experimental station of the Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc, belonging to the Universidad Autónoma del Estado de Morelos, during the autumn-winter 2017/2018 agricultural cycle in irrigation and drought conditions, by using a Randomized Complete Block Design with four repetitions. The measured traits were male flowering, female flowering, anthesis-silking interval, plant and ear height, 100-kernel weight and grain yield. Analysis of variance, mean comparison, correlation analysis, and non-orthogonal contrasts were performed. 16 SSR markers were tested to identify polymorphism between parents, identifying the bnlg1863 marker as polymorphic. Analyses of Variance detected high phenotypic variation in measured traits. Lines that were identified as susceptible had an 81.5% decrease in grain yield compared to tolerant lines under drought conditions. Intermediate and highly significant correlations were obtained between the grain yield and female flowering and the 100-kernel weight. The banding pattern generated by the bnlg1863 marker identified highly significant phenotypic association with grain yield and female flowering.

**Keywords:** *Zea mays*, water stress, microsatellites.

### 6.3. INTRODUCCIÓN

La agricultura depende en gran medida de condiciones ambientales que tienen impacto en el establecimiento, crecimiento y desarrollo de un cultivo; sin embargo, la creciente incidencia de climas extremos con efectos negativos en la agricultura, la hacen vulnerable a catástrofes naturales (FAO, 2018).

El maíz es uno de los cereales más importantes para la alimentación humana y animal, está ampliamente distribuido en el mundo y en los últimos cinco años la producción total de maíz ha superado en un 31.8 y 30.7 % a la producción de trigo y arroz respectivamente (FAO, 2020). Sin embargo, el rendimiento de maíz es severamente afectado cuando se presenta un periodo de sequía, debido a que es uno de los factores ambientales que más daño puede provocar en diferentes etapas de desarrollo, particularmente durante la transición de crecimiento vegetativo al reproductivo (Wang *et al.*, 2019; Xu *et al.*, 2014).

En los últimos años, el rendimiento de maíz ha registrado un incremento significativo, como consecuencia del mejoramiento convencional; no obstante, lo anterior, el avance del fitomejoramiento ha sido lento y costoso, particularmente el mejoramiento en tolerancia a la sequía, debido a que el rendimiento de grano muestra una baja heredabilidad en experimentos conducidos bajo sequía y una significativa presencia de interacción genotipo x ambiente (Edmeades, 2013; Tuberosa *et al.*, 2007).

La tolerancia a la sequía es un carácter poligénico, con importantes efectos aditivos de muchas regiones cromosómicas del maíz. Lo que dificulta la introgresión efectiva de genes que confieren tolerancia a sequía, debido al gran número de regiones genómicas involucradas en el germoplasma bajo mejoramiento. Por consecuencia, el avance en tolerancia a la sequía, en germoplasma de plantas cultivadas mediante técnicas convencionales de fitomejoramiento, frecuentemente es lento, debido al control poligénico en las características relacionadas con generar tolerancia a sequía

en ambientes limitantes de humedad. Considerando que las características morfo-fisiológicas que determinan tolerancia a la sequía en los cultivos, se heredan cuantitativamente, el descubrimiento de segmentos cromosómicos con loci que controlan caracteres cuantitativos (QTLs) son de gran importancia, cuando se ligan con marcadores moleculares de ADN. Por lo que, cuando se determina que un marcador se asoció a una expresión fenotípica particular en una característica cuantitativa, el marcador molecular reduce o elimina la dependencia de la expresión fenotípica de condiciones ambientales específicas durante la fase de selección, lo que se reconoce como un importante obstáculo en la selección convencional en ambientes de sequía (Ribaut *et al.*, 2002; Sibov *et al.*, 2003; Ribaut *et al.*, 2004).

Por consecuencia, la selección recurrente asistida por marcadores, es una técnica propuesta para incrementar la frecuencia de alelos favorables heredados aditivamente en poblaciones mejoradas, sea por medio de selección entre recombinantes F<sub>2</sub> o en progenies avanzadas (Bernardo, 2008). En un estudio con 38 híbridos de maíz evaluados en condiciones de riego y estrés hídrico aplicado durante el periodo de llenado de grano, se genotipearon los híbridos con 12 marcadores de secuencia simple repetida (SSR) con el propósito de evaluar la relación fenotípica de los híbridos con el patrón de bandeo SSR; identificándose un total de 40 alelos, donde alelos de los marcadores umc1862 (bin 1.11), umc1719 (bin 4.10-4.11), umc1447 (bin 5.03), umc2359 (bin 9.07) y umc1432 (bin 10.02) se determinó que contribuyeron significativamente a diferenciar híbridos tolerantes a la sequía (Shiri, 2011). En otro estudio se caracterizó un grupo de 24 líneas de maíz tropical por su respuesta diferencial al estrés por sequía, y se emplearon 37 marcadores SSR para genotiparlas; estos marcadores se localizan cerca de loci de caracteres cuantitativos (QTL) de caracteres morfo-fisiológicos asociados con la tolerancia a la sequía en la etapa de floración en maíz. Los resultados identificaron 11 marcadores altamente informativos que contribuyeron significativamente a la diferenciación de genotipos tolerantes y susceptibles a la sequía (Dubey *et al.*, 2009).

En diferente estudio se generó una población segregante, por el cruzamiento de una línea élite de maíz con tolerancia a sequía por una línea susceptible a la misma condición de estrés; la línea tolerante se usó previamente para mapear QTLs (Ribaut *et al.*, 1996; 1997), en tanto que, la línea susceptible se seleccionó por su alto rendimiento *per se* y por sobresaliente aptitud combinatoria. El estudio identificó cinco QTLs de seis, previamente identificados para el intervalo anthesis-emergencia de estigmas (ASI), y un QTL adicional ubicado en el cromosoma 3 (Ribaut *et al.*, 1999). En el cromosoma uno, se ubicó consistentemente un QTL para ASI en condiciones de sequía, a través de cuatro diferentes poblaciones de maíz, en tres de esas poblaciones, se identificaron QTLs en los cromosomas 2, 5, y 8 para el mismo carácter; y uno en el cromosoma 10 sólo presente en dos poblaciones. En contraste, sólo se localizó un QTL para rendimiento de grano consistentemente en el cromosoma uno. Los resultados justifican dar especial atención a dichas regiones cromosómicas, para probar asociación fenotípica con marcadores moleculares vecinos a esas regiones genómicas con diferente germoplasma de maíz. Los objetivos de esta investigación fueron: 1) Determinar la respuesta fenotípica a condiciones de riego y sequía inducida de un grupo de líneas S2 segregantes de maíz por medio de siete variables cuantitativas, y 2) Evaluar la asociación estadística entre la expresión fenotípica contrastante de tres caracteres morfológicos y los patrones electroforéticos de marcadores SSR.

## **6.4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Germoplasma de estudio**

En esta investigación se evaluaron 24 genotipos de maíz, 20 de estos son líneas S<sub>2</sub> segregantes, los progenitores la línea Ac7643 (tolerante a sequía) y la línea B39 (susceptible a sequía), así como las líneas T-43 (tolerante a sequía) y Ac7729 (susceptible a sequía) como testigos. Las líneas Ac7643 y Ac7729 fueron proporcionados el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) y las líneas B39 y T-43 por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

### **Descripción de la localidad de evaluación**

La evaluación del germoplasma se realizó en el campo experimental de la Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc, dependiente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, el que se localiza en el municipio de Ayala. La localidad de evaluación se caracteriza por tener un clima Cálido Sub-húmedo, tipo de suelo vertisol, con una altitud de 1285 m, un rango de temperaturas de 8.4-36.0 °C y una precipitación media anual de 912 mm (INEGI, 2017).

### **Descripción y manejo de experimentos**

El germoplasma de estudio, se estableció en dos experimentos de campo contiguos, uno en condiciones de riego y el otro en condiciones de sequía inducida, durante el ciclo agrícola otoño invierno 2017/2018, ciclo agrícola que se caracteriza por no presentar lluvias. La preparación del terreno fue un barbecho, rastra y surcado a una distancia de 0.75 m. La dosis de fertilización fue 170-70-00 en dos aplicaciones 100-

70-00 al momento de la siembra y en la segunda se proporcionó el resto del nitrógeno cuando las plantas se encontraron en la etapa fenológica V6 (Ritchie *et al.*, 1992). El manejo agronómico de los experimentos se llevó a cabo con base en las recomendaciones de la guía técnica para el cultivo de maíz (Trujillo, 2002) del Campo Experimental de Zacatepec, Morelos del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

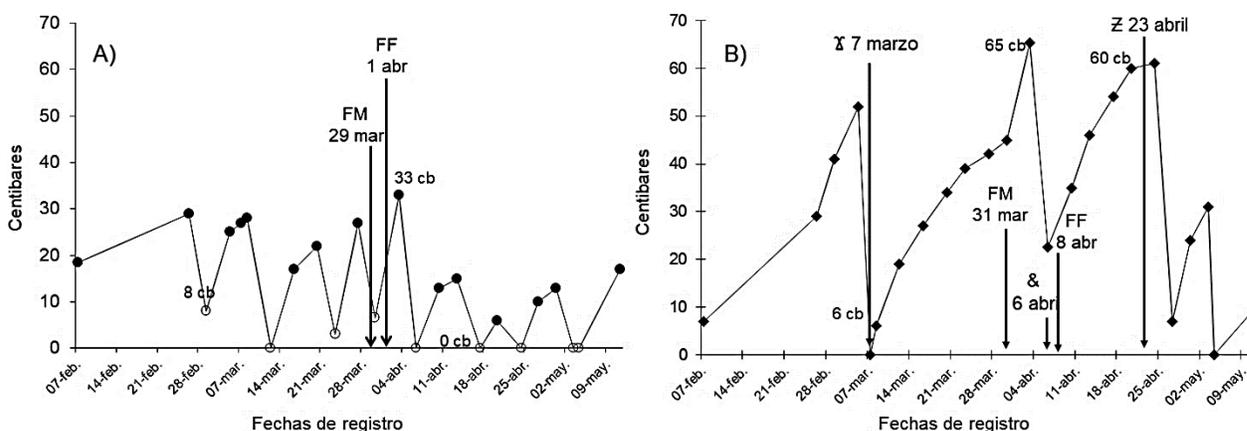
### **Manejo de la humedad en ambos experimentos**

El manejo de humedad inicial en ambos experimentos fue con un riego de siembra y posteriormente se suministraron cinco riegos en ambos experimentos a intervalo de 12 días entre riegos. Para el ambiente de riego, se mantuvo esta misma frecuencia de suministro del agua durante todo el ciclo biológico. En tanto que, en el ambiente de sequía, a partir del quinto riego se restringió el suministro de agua, por un periodo de 30 días, posteriormente se aplicó un riego ligero, regando cada tercer surco, después de este riego no se aplicó riego por 18 días más. Finalmente, se aplicaron dos riegos con frecuencia de 12 días para favorecer el llenado de grano en el ambiente de sequía. El suministro de riego fue por gravedad para ambos experimentos. Con el propósito de medir el nivel de tensión hídrica en los experimentos a través del ciclo biológico del maíz, se colocaron dos tensiómetros por ambiente de humedad, obteniendo el promedio de lecturas ambos tensiómetros por ambiente. Las lecturas de los tensiómetros a través del ciclo biológico se muestran en la Figura 6.1.

### **Diseño experimental**

El diseño experimental utilizado en ambos experimentos fue Bloques Completos Azar con cuatro repeticiones, por entrada. El tamaño de la unidad experimental estuvo constituido por un surco de cinco metros de largo y a una distancia entre surcos de 0.75 m. La siembra se realizó de manera manual depositando dos semillas cada 0.20

m y realizando un a clareo cuando las plantas se encontraban en la etapa fenológica V3 (Ritchie *et al.*, 1992).



**Figura 6.1.** Registro de los tensiómetros colocados en los ambientes de evaluación, riego (A) y sequía (B), floración masculina (FM), floración femenina (FF), último riego (X), medio riego (&) y reanudación de riego (Z).

### Variables de respuesta

Las características medidas en los experimentos fueron: floración masculina (FM), floración femenina (FF), estas se registraron con el número de días transcurridos desde la siembra hasta que el 50 % más uno de las plantas en la unidad experimental, se encontraban liberando polen o se presentaban con estigmas receptivos, respectivamente, intervalo antesis-emergencia de estigmas (ASI), determinado por la diferencia entre los días a floración femenina y los días a floración masculina, altura de planta (AP), la que se determinó midiendo la longitud en centímetros desde la base del tallo a la punta de la espiga principal, altura de mazorca (AM) se determinó

midiendo la longitud desde la base del tallo, al nudo donde se inserta la mazorca principal, el peso de 100 granos (P100G), la que se cuantificó con base en las mazorcas desgranadas por unidad experimental, tomando al azar una muestra de 100 granos expresando el peso en gramos, y el rendimiento de grano (RG), representado por el peso total de grano, ajustado al 15.5 % de humedad y por el número de plantas cosechadas por unidad experimental, registrando el peso en  $\text{ton ha}^{-1}$ .

### **Análisis estadístico**

Los datos provenientes de las variables de respuesta, se sometieron a un análisis de varianza individual (por ambiente de humedad) y combinado (considerando ambos ambientes). Se realizó una comparación múltiple de medias, mediante el procedimiento de Diferencia Mínima Significativa ( $\alpha=0.05$ ), se estimaron los coeficientes de correlación fenotípica entre variables. Los análisis estadísticos se realizaron usando el software Statistical Analysis System (SAS, 2009).

### **Extracción y cuantificación de ADN**

El genotipo de las líneas segregantes  $S_2$  y sus progenitores, se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc. Se extrajo ADN genómico de tejido foliar fresco de cinco plantas tomadas al azar de cada genotipo, se colocó el tejido en tubos de plástico etiquetados previamente y en hielo para su traslado al laboratorio. Posteriormente, en un mortero se colocaron aproximadamente 200 mg del tejido vegetal y se maceró utilizando 2 mL de buffer de extracción, vertiendo solo 1000  $\mu\text{L}$  de la emulsión en tubos eppendorf de 2 mL, y se incubaron en Baño María a  $65^\circ\text{C}$  durante 60 minutos. Los tubos fueron removidos del Baño María y se centrifugaron a temperatura ambiente a 12 mil rpm, durante 5 min. Posteriormente, se extrajo y transfirió la fase líquida superior (600  $\mu\text{L}$ ) a un tubo eppendorf de 2.0 mL, se añadieron 1400  $\mu\text{L}$  de una solución de cloroformo y alcohol

iso-amílico (en una proporción de 24:1). Posteriormente se centrifugaron a temperatura ambiente a 8 mil rpm durante 15 min. Después del centrifugado se transfirió la fase líquida superior a un nuevo tubo de 2 mL y se adicionaron dos volúmenes de etanol absoluto frío (-20° C) y 50 µL de 3M Acetato de Sodio pH 5.2 para precipitar el ADN, se realizaron dos lavados del grumo de ADN con etanol al 70 %. El grumo de ADN se secó y se suspendió en 1 mL de TE + 1.5 µL de ARNasa (10 mg/mL), dejándose en baño María a una temperatura de 65°C por dos horas. Los tubos fueron almacenados a -20°C hasta su uso en la determinación de la concentración del ADN. La determinación de la concentración del ADN, se realizó en un equipo NanoDrop 2000 UV en el Laboratorio de Fisiología Molecular de Plantas del Centro de Investigaciones en Biotecnología de la UAEM. De cada una de las muestras se colocó 1 µL en el NanoDrop 2000 UV y se procedió a tomar la lectura.

### **Marcadores SSR**

Se probaron 16 marcadores de secuencia simple repetida (SSR), que fueron seleccionados con base a marcadores RFLP identificados por estar asociados a loci que controlan los caracteres cuantitativos (QTLs) para el intervalo anthesis-emergencia de estigmas (ASI) y rendimiento de grano (RG), para tal fin se usó la base de datos Maize Database, para obtener información de los marcadores seleccionados considerando la ubicación en de los loci más cercanos a la posición a los marcadores RFLP. La información de los marcadores utilizados en el genotipo del presente estudio, se presenta en el Cuadro 6.1.

### **Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y electroforesis**

Para el análisis de los marcadores SSR el volumen de la reacción de PCR fue de 25 µL y consistió en 2.5 µL de Buffer A (10 X), 0.6 µL de MgCl<sub>2</sub> (50 mM), 0.5 µL de dNTP's (10 mM), 3 µL de cada primer, 0.2 µL de Taq polimerasa, 5 µL de ADN

genómico (10 ng/μL) y completando el volumen total de la reacción con 10.2 μL de H<sub>2</sub>O inyectable. Las amplificaciones fueron realizadas utilizando el termociclador Aeris™ (ESCO®). Las condiciones de PCR para la amplificación del ADN genómico fueron: desnaturalización inicial a 94°C durante 1 min, seguido de 35 ciclos a 94°C durante 1 min, la temperatura de alineamiento del primer (rango usado en esta fase de 62.5 a 68.8°C) por 1 min, 72°C durante 1 min y una fase de extensión final a 72°C por 5 min.

**Cuadro 6.1.** Información de los marcadores SSR utilizados en el análisis de 20 líneas S<sub>2</sub> segregantes y las líneas progenitores Ac7643 y B39.

Marcador	Bin	Secuencia	
		Forward	Reverse
bnlg1484	1.03	GTAAAAGACGACGACATTCCG	GACGTGCACTCCGTTTAAACA
umc1726	1.10	GATGAGGAAGAAAAGGGAAAAGGA	AGACTCAACCCTAACCTAATGGG
bnlg2248	2.03	CCACCACATCCGTTACATCA	ACTTTGACACCGGCGAATAC
mmc0191	2.07	GGTGTTCAGTGTGAAAGGTTA	AAGATTTCCGCAAGGTTAAAC
umc102a	3.05	CTGCCTCTCAGATTCAGAGATTGAC	AACCCAACGTACTIONCCGGCAG
umc1825	3.07	ACTCAAGAGCAGACTGCAAAACCT	CGTGCATGTATTGTTTGTCTAGC
umc2048	3.10	GCTGAAGTCCCAACCACCAC	TTGACATGTTCTACCATCTCACCAA
umc1260	5.00	CTTAAGCAGAGCTCAAAAAGTCC	TAAATTGTCAAGCGAGGTTTGGAT
bnlg1346	5.07	CATCATGAAGCAATGAAGCC	CCGCGCCATTATCTAGTTGT
bnlg1702	6.05	TTATCATCAAATGGAGGACACG	AAAGACACACGCTAATGGGC
nc013	6.05	AATGGTTTTGAGGATGCAGCGTGG	CCCCGTGATTCCCTTCAACTTTC
dupssr15	6.06	GAAGTCGATCCATCCACC	GGGGTAGTGGAGATAACTAGTG
bnlg1136	6.07	TAACCGGATGAGCATCTTCC	CATCAGCTTCAACGAGTTCCG
bnlg1863	8.03	GGCGTTCGTTTTGCACTAAT	CGACACAGTTGACATCAGG
bnlg1834	8.03	AAGGTTGGGTGTTGCTATGC	TAGCTCTGCCACTGGACATG
bnlg1460	8.03	TTTACGGCTGGAGTGCC	GACTCCGCTGTTCCAGAATC

## **Análisis de asociación estadística fenotipo-patrón de bandeo SSR**

La asociación fenotípica-patrón de bandeo genético se evaluó para los datos de tres características fenotípicas floración femenina (FF), peso de 100 granos (P100G) y para el rendimiento de grano (RG). Con base en la fotodocumentación del gel, producido por la electroforesis de los fragmentos de ADN amplificados por el marcador bnlg1863 que resultó polimórfico, se detectaron dos grupos de líneas, el grupo de las líneas que mostraron la banda generada por el progenitor femenino (Ac7643 tolerante a sequía) integrado por cinco líneas y el grupo de líneas con la banda del progenitor masculino (B39 susceptible a sequía) conformado por 14 líneas. Usando los datos de las variables mencionadas se compararon estadísticamente ambos grupos, mediante la técnica de contrastes no ortogonales, considerando presencia de asociación fenotipo-patrón de bandeo si el contraste mostró diferencia altamente significativa ( $P \leq 0.01$ ).

## 6.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de los análisis de varianza combinados (riego y sequía) de las características medidas en el grupo de líneas segregantes  $S_2$  (Cuadro 6.2), muestran en las fuentes de variaciones de Ambientes, Línea y de la interacción Línea x Ambiente diferencias estadísticas altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ) en todas las variables medidas. Los coeficientes de variación que se obtuvieron del experimento fluctuaron de 1.86 a 24.31 %, estos valores correspondieron a la característica de floración femenina y rendimiento de grano, respectivamente. Los resultados encontrados en el comportamiento de líneas, se explica por el hecho de que son segregantes provenientes del cruzamiento de líneas contrastantes en su respuesta a la sequía, por lo que resultan con una alta variación genética entre líneas hermanas, en cuanto a las diferencias identificadas entre ambientes, es un resultado esperado, debido a que la sequía impuesta en pre y durante la floración tiene un alto impacto en el maíz, cuya etapa crítica de máxima reducción del rendimiento es esta etapa fenológica. Con relación a las diferencias detectadas en la interacción Línea x Ambiente, se pueden explicar por la respuesta diferencial de líneas segregantes a las dos condiciones de humedad, debido al papel que juegan los genes cuando son sometidos a diferentes condiciones ambientales; como se ha determinado en estudios previos en maíz, donde la tolerancia a la sequía es consecuencia de diferentes sistemas poligénicos controlando diferentes características cuantitativas, algunas de muy baja heredabilidad en condiciones de sequía y alto grado de interacción genotipo x ambiente (Qayyum *et al.*, 2012).

**Cuadro 6.2.** Cuadrados medios de siete características morfológicas de líneas segregantes S<sub>2</sub> de maíz, evaluadas en los ambientes de riego y sequía en Ayala, Morelos.

FV	Amb	Rep/Amb	Línea	Lín x Amb	Error	CV
GL	1	6	23	23	138	
FM <sub>d</sub>	148.76**	2.44ns	30.68**	20.22**	3.73	2.49
FF <sub>d</sub>	2153.38**	4.88ns	21.13**	17.30**	2.34	1.86
ASI <sub>¶</sub>	1.523**	0.003ns	0.017**	0.013**	0.401	4.08
AP <sub>cm</sub>	43657.20**	397.32*	1416.54**	193.14ns	20151.18	9.56
AM <sub>cm</sub>	508.63**	574.35**	955.55**	152.13**	8899.49	14.27
P100G <sub>g</sub>	36.31**	8.48**	55.00**	25.30**	458.3	12.18
RG <sub>t ha<sup>-1</sup></sub>	57.38**	0.08ns	1.10**	0.51**	9.27	24.31

FV = Fuente de variación; GL = Grados de libertad; FM = Floración masculina; FF = Floración femenina; ASI = Intervalo antesis-emergencia de estigmas; AP = Altura de planta; AM = Altura de mazorca; P100G = Peso de 100 Granos; RG = Rendimiento de Grano; NS = No significativo; \* = Significativo a 5 %; \*\* = Significativo a 1 %.

Con base a que se encontraron diferencias estadísticas en la fuente de variación de Ambientes y Líneas, se realizó la comparación múltiple de medias por ambientes (Cuadro 6.3 y 6.4). En el Cuadro 6.3, se presentan los resultados del comportamiento agronómico de las líneas segregantes en el ambiente de sequía; en este cuadro se separaron estadísticamente dos grupos de líneas, una tolerante y una susceptible a la sequía, este agrupamiento surgió por el rendimiento de grano en sequía de líneas evaluadas, donde la separación se marcó por la diferencia en rendimiento por las línea LUM134 (0.455 t.ha<sup>-1</sup>) y LUM126 (0.219 t.ha<sup>-1</sup>) cuya diferencia en rendimiento entre ambas líneas (0.236 t.ha<sup>-1</sup>) superó el valor de DMS<sub>(0.05)</sub> (0.189 t.ha<sup>-1</sup>), de manera que las líneas con rendimiento de grano mayor o igual a 0.455 t.ha<sup>-1</sup> se consideraron tolerantes a sequía, en tanto que las líneas menores o iguales a 0.219 t.ha<sup>-1</sup> se clasificaron como líneas susceptibles a la sequía.

**Cuadro 6.3.** Promedio de las variables medidas en el ambiente de sequía de las líneas S<sub>2</sub> segregantes de maíz.

<b>LÍNEA</b>	<b>RG</b> t ha <sup>-1</sup>	<b>FM</b> d	<b>FF</b> d	<b>ASI</b> d	<b>AP</b> cm	<b>AM</b> cm	<b>P100G</b> g
<b>Líneas Tolerantes</b>							
LUM78	1.357	73.3	81.0	7.8	108.9	47.2	15.0
LUM28	1.221	74.8	80.8	6.0	90.8	40.4	13.9
LUM38	0.821	78.3	84.3	6.0	97.5	42.8	13.1
LUM1	0.782	74.0	84.8	10.8	114.3	53.4	13.8
LUM73	0.779	78.3	86.8	8.5	113.0	53.7	12.9
LUM191	0.660	77.3	86.0	8.8	133.3	54.8	11.5
LUM96	0.604	80.0	84.5	4.5	88.6	39.8	14.2
LUM30	0.590	77.3	83.5	6.3	126.1	56.8	15.1
LUM70	0.581	82.3	89.3	7.0	105.4	55.9	13.9
LUM134	0.455	81.8	88.0	6.3	126.1	68.4	16.9
<b>Media</b>	<b>0.785</b>	<b>77.7</b>	<b>84.9</b>	<b>7.2</b>	<b>110.4</b>	<b>51.3</b>	<b>14.0</b>
<b>Líneas Susceptibles</b>							
LUM126	0.219	79.3	86.0	6.8	91.3	64.0	14.6
LUM97	0.186	80.3	88.5	8.3	123.9	66.5	14.9
LUM50	0.185	81.3	85.3	4.0	98.9	47.2	14.6
LUM143	0.175	81.5	87.0	5.5	118.1	60.8	13.9
LUM98	0.173	75.0	88.0	13.0	92.6	69.0	14.4
LUM3	0.160	76.8	84.0	7.3	121.3	67.6	17.1
LUM108	0.141	74.8	86.8	12.0	118.5	44.9	13.7
LUM44	0.101	76.3	83.3	7.0	106.2	44.3	14.3
LUM144	0.096	77.5	89.5	12.0	124.2	79.9	14.8
LUM10	0.015	81.5	89.8	8.3	94.7	40.6	16.9
<b>Media</b>	<b>0.145</b>	<b>78.4</b>	<b>86.8</b>	<b>8.4</b>	<b>109.0</b>	<b>58.5</b>	<b>14.9</b>
B39 <sup>PS</sup>	0.504	81.3	87.8	6.5	129.9	66.5	17.4
Ac7643 <sup>PT</sup>	0.747	81.5	84.0	2.5	120.1	60.8	22.8
Ac7729 <sup>TS</sup>	0.653	79.5	86.0	6.5	117.6	39.6	23.4
T43 <sup>TT</sup>	1.271	81.3	83.3	2.0	109.6	46.5	16.7
<b>Media<sup>G</sup></b>	<b>0.520</b>	<b>78.5</b>	<b>85.7</b>	<b>7.2</b>	<b>111.3</b>	<b>54.6</b>	<b>15.4</b>
<b>DMS<sub>(0.05)</sub></b>	<b>0.189</b>	<b>3.5</b>	<b>2.6</b>	<b>2.9</b>	<b>19.7</b>	<b>12.3</b>	<b>2.8</b>

PS: Progenitor susceptible; PT: Progenitor tolerantes; TS: Testigo susceptible; TT: Testigo tolerantes; Media<sup>G</sup>: Media general del experimento; DMS: Diferencia mínima significativa.

Con base en el agrupamiento de las líneas segregantes tolerantes y susceptibles, se puede observar en el Cuadro 6.3, que solo en la característica del rendimiento de grano, ambos grupos difieren significativamente; en promedio las líneas susceptibles redujeron en un 81.5 % el rendimiento en comparación al grupo de tolerantes, como consecuencia del nivel de estrés por sequía impuesto. En cuanto al comportamiento de los progenitores en el ambiente de sequía, el progenitor tolerante Ac7643 superó en  $0.243 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$  el rendimiento del progenitor susceptible B39, mientras que B39 mostró 3.8 días más en el periodo de floración femenina y 4 días más en el intervalo antesis-emergencia de estigmas; considerando que el promedio del ambiente de sequía fue de 7.2 días en el intervalo antesis-emergencia de estigmas, es un indicador que el nivel de estrés obtenido por la restricción de agua fue suficiente, considerando el criterio utilizado por el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo en experimento con sequía artificialmente inducida, que considera que cuando se obtiene un retraso en la floración femenina de entre 4 y 8 días en el ASI, es posible identificar germoplasma con genes de tolerancia a sequía (Bänziger *et al.*, 2012).

En el cuadro 6.4, se muestra el comportamiento agronómico de las líneas en el ambiente de riego. Los resultados indican que ambos grupos de líneas (tolerantes y susceptibles) que las líneas tienen un comportamiento similar en ambientes no limitantes de agua, debido a que no se detectaron diferencias estadísticas significativas para las siete características evaluadas. El comportamiento de las líneas a través de los ambientes de riego y sequía, se detectó una reducción del rendimiento de grano del orden de 67.8 % en el ambiente de sequía, en comparación al de riego; la floración masculina se prolongó en 1.7 días en sequia; en la floración femenina y el intervalo antésis-emergencia de estigmas se prolongaron en 6.7 y 4.9 días, respectivamente; otro cambio observado a través de ambientes fue en la altura de planta, donde se encontró que las líneas fueron 21.3% más altas que en el ambiente de sequía; en la altura de mazorca y el peso de 100 granos no se encontró respuesta por efecto de diferentes ambientes de humedad. La evaluación a través de ambientes de humedad, permitió detectar diferencias tanto entre grupos de líneas como entre ambientes, lo que indica que la intensidad del estrés por falta de agua fue

**Cuadro 6.4.** Promedio de las variables medidas en el ambiente de riego de las líneas S<sub>2</sub> segregantes de maíz.

<b>LÍNEA</b>	<b>RG</b> t ha <sup>-1</sup>	<b>FM</b> d	<b>FF</b> d	<b>ASI</b> d	<b>AP</b> cm	<b>AM</b> cm	<b>P100G</b> g
<b>Líneas Tolerantes</b>							
LUM78	1.977	72.8	75.3	2.5	130.8	46.0	12.9
LUM28	1.302	76.3	79.0	2.8	109.8	37.4	12.7
LUM38	1.402	76.3	78.8	2.5	130.4	50.0	16.6
LUM1	2.046	76.0	78.8	2.8	129.1	46.1	13.2
LUM73	2.519	73.8	76.8	3.0	160.6	68.5	14.6
LUM191	1.366	79.5	82.0	2.5	152.4	69.9	10.4
LUM96	1.372	76.5	79.0	2.5	125.3	47.4	10.9
LUM30	1.206	77.3	80.0	2.8	151.4	57.8	11.9
LUM70	1.487	77.8	80.3	2.5	146.2	62.7	12.1
LUM134	1.383	79.5	81.5	2.0	168.2	81.0	15.8
<b>Media</b>	<b>1.606</b>	<b>76.6</b>	<b>79.1</b>	<b>2.6</b>	<b>140.4</b>	<b>56.7</b>	<b>13.1</b>
<b>Líneas Susceptibles</b>							
LUM126	1.065	80.0	82.0	2.0	136.0	64.1	15.4
LUM97	1.379	76.3	78.5	2.3	147.5	65.8	14.3
LUM50	1.417	76.5	78.3	1.8	140.6	58.2	11.9
LUM143	1.018	78.5	80.3	1.8	139.2	65.6	12.7
LUM98	1.161	77.8	79.8	2.0	120.5	45.0	9.7
LUM33	1.257	78.8	81.0	2.3	145.2	65.4	14.3
LUM108	1.952	76.0	78.3	2.3	142.1	56.9	23.0
LUM44	1.797	77.0	78.8	1.8	134.5	46.4	14.9
LUM144	1.042	74.5	77.0	2.5	146.2	51.9	10.9
LUM10	1.301	76.3	79.0	2.8	132.1	48.7	13.7
<b>Media</b>	<b>1.339</b>	<b>77.2</b>	<b>79.3</b>	<b>2.1</b>	<b>138.4</b>	<b>56.8</b>	<b>14.1</b>
B39 <sup>PS</sup>	2.757	73.3	76.3	3.0	164.5	64.3	22.8
Ac7643 <sup>PT</sup>	2.378	73.3	76.3	3.0	159.6	79.3	17.5
Ac7729 <sup>TS</sup>	2.312	77.8	79.5	1.8	156.2	71.7	16.8
T43 <sup>TT</sup>	1.820	81.0	81.0	0.0	126.4	39.6	19.8
<b>Media<sup>G</sup></b>	<b>1.613</b>	<b>76.8</b>	<b>79.0</b>	<b>2.3</b>	<b>141.4</b>	<b>57.8</b>	<b>14.5</b>
<b>DMS<sub>(0.05)</sub></b>	<b>0.481</b>	<b>1.5</b>	<b>1.6</b>	<b>0.9</b>	<b>14.0</b>	<b>10.3</b>	<b>2.4</b>

PS: Progenitor susceptible; PT: Progenitor tolerantes; TS: Testigo susceptible; TT: Testigo tolerantes; Media<sup>G</sup>: Media general del experimento; DMS: Diferencia mínima significativa.

suficiente como para permitir la expresión genética de las líneas segregantes, además de la necesidad de identificar genotipos estables en el rendimiento de grano, tanto en

condiciones óptimas de humedad como bajo estrés hídrico (Ertiro *et al.*, 2017). Los resultados en el comportamiento de las características estudiadas en ambos ambientes, apoyan lo reportado en otras investigaciones sobre el hecho de que la tolerancia a la sequía en el maíz, es un carácter cuantitativo y complejo; porque el comportamiento de una planta es el resultado de diferentes sistemas poligénicos controlando características agronómicas importantes. Sin embargo, características agronómicas como la altura de planta y mazorca y el intervalo anthesis-emergencia de estigmas se han utilizado con éxito como criterios de selección para mejorar la tolerancia a la sequía en el maíz (Zhao *et al.*, 2018).

Los resultados de los análisis de correlación (Cuadro 6.5), detectaron en el ambiente de riego, asociación fenotípica alta entre las características de floración masculina (FM) y la femenina (FF) con un coeficiente de correlación altamente significativo de 0.97\*\*, de igual forma se observó que entre la altura de planta (AP) y de mazorca (AM) se obtuvo una correlación altamente significativa de 0.88\*\*; y con valores de correlación intermedios se identificaron las asociaciones entre el rendimiento y las

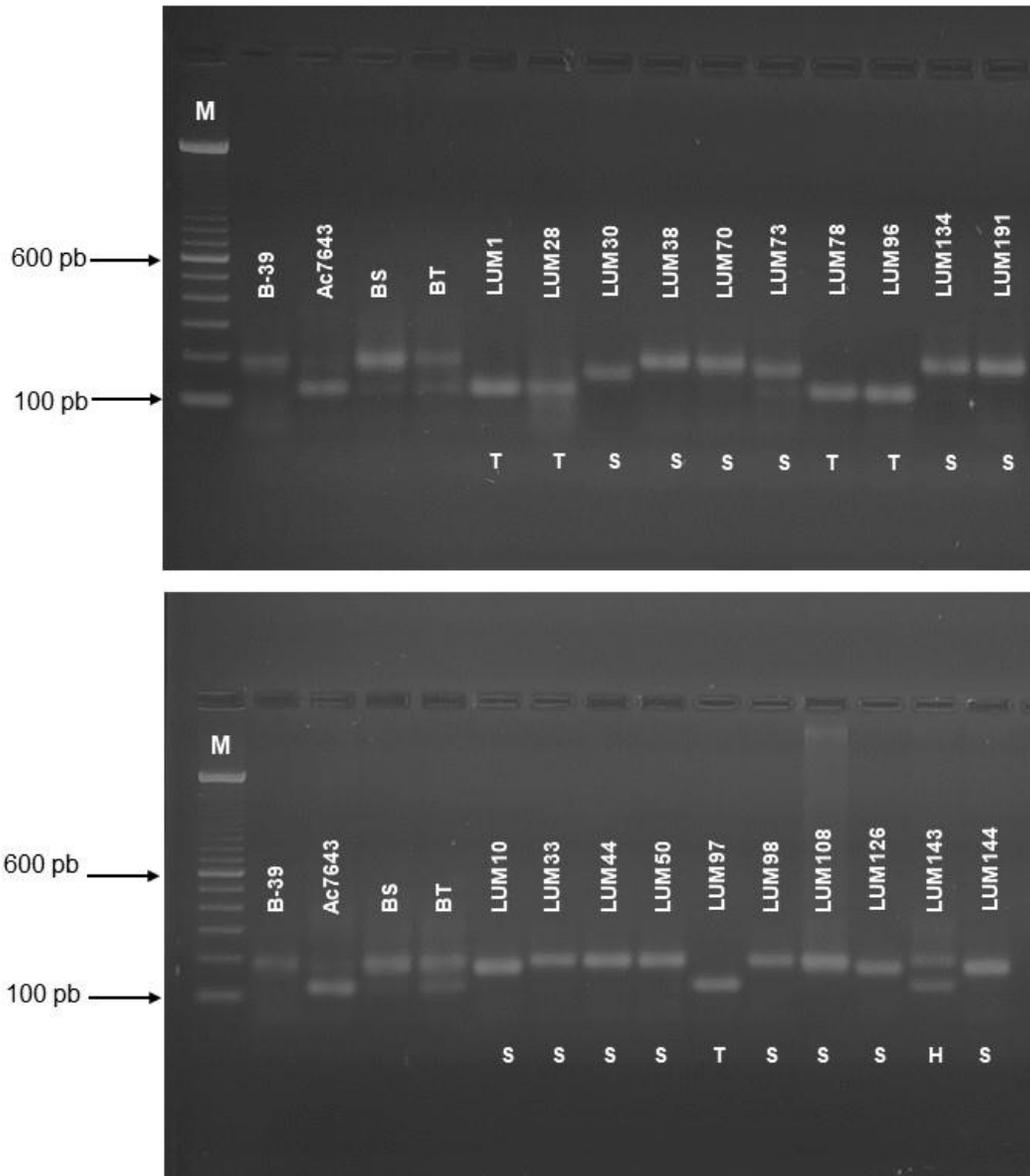
**Cuadro 6.5.** Correlaciones fenotípicas entre las características medidas a través de ambos ambientes (negritas riego, normal sequía)

Variables	FM d	FF d	ASI d	AP cm	AM cm	P100G g	RG t ha <sup>-1</sup>
FM		<b>0.97**</b>	<b>-0.68**</b>	<b>-0.14ns</b>	<b>0.05ns</b>	<b>-0.12ns</b>	<b>-0.54*</b>
FF	0.47*		<b>-0.46*</b>	<b>-0.09ns</b>	<b>0.13ns</b>	<b>-0.19ns</b>	<b>-0.58*</b>
ASI	-0.59**	0.43*		<b>0.23ns</b>	<b>0.19ns</b>	<b>-0.16ns</b>	<b>0.18ns</b>
AP	0.08ns	0.20ns	0.11ns		<b>0.88**</b>	<b>0.31ns</b>	<b>0.41ns</b>
AM	0.11ns	0.48*	0.32ns	0.48*		<b>0.18ns</b>	<b>0.21ns</b>
P100G	0.36ns	-0.01ns	-0.38ns	0.20ns	0.01ns		<b>0.62**</b>
RG	-0.21ns	-0.65**	-0.38ns	-0.07ns	-0.39ns	0.05ns	

\*\* = Significativo a 1 %; \* = Significativo a 5 %; ns = No significativo.

características de peso de 100 granos (0.62\*\*), floración femenina (-0.58\*\*) y floración masculina (-0.54\*\*); de igual manera se encontró una correlación media entre la floración femenina y el intervalo de antesis-emergencia de estigmas (-0.68\*\*), y una baja correlación entre la floración femenina y el ASI con valor de -0.46\*. En tanto que, para el ambiente de sequía inducida se identificaron solo correlaciones intermedias y bajas. Correlaciones intermedias se encontraron entre el rendimiento de grano y la floración femenina y con el intervalo antesis-emergencia de estigmas, con valores de -0.65\*\* y -0.59\*\*, respectivamente; y correlaciones menores al 50 por ciento entre las características de floración masculina y femenina (0.47\*), floración femenina e intervalo antesis-emergencia de estigmas (0.43\*) y entre la altura de planta y mazorca (0.48\*). Los resultados obtenidos del comportamiento de las correlaciones fenotípicas concuerdan con los reportados con otro tipo de germoplasma de maíz, particularmente la asociación entre el rendimiento y la floración femenina en la que se determinaron correlaciones negativas y altamente significativas (Xue *et al.*, 2013).

Con relación al genotipo, los resultados indicaron que las líneas progenitoras Ac7643 (tolerante a sequía) y B39 (susceptible a sequía) fueron polimórficas entre sí solo para el marcador bnlg1863, en tanto que en los 15 restantes se obtuvo monomorfismo. El patrón electroforético mostrado por los productos de PCR del marcador bnlg1863, se presenta en la Figura 6.2, en ésta se observa que la banda resultado de la amplificación con el ADN del progenitor B39 (susceptible a la sequía) tiene una longitud aproximada de 190 pares de base, en tanto que el progenitor Ac7643 (tolerante a la sequía) presentó una banda de 120 pares de bases aproximadamente. El patrón electroforético obtenido concuerda con los patrones reportados para el marcador bnlg1863, el que produjo un patrón de una banda entre 100 y 200 pares de bases en 11 líneas endogámicas de maíz (MaizeGDatabase, 2020). En cuanto al patrón electroforético generado por las 20 líneas segregantes, las líneas LUM1, LUM28, LUM78, LUM96 y LUM97 mostraron el mismo patrón de bandeo que la línea Ac7643 (tolerante), la línea LUM143 reveló un patrón electroforético heterocigoto, al mostrar las bandas generadas por ambos progenitores; y el resto de las 20 líneas mostraron el patrón del progenitor B39 (susceptible) [Figura 6.2].



**Figura 2.** Patrón de bandeo obtenido por el marcador *bnlg1863* en los progenitores (B39 y AC7643) y grupo el grupo de líneas segregantes. M: ladder de 100pb, S: patrón similar a B39; T: patrón similar a Ac7643; H: heterocigoto.

Considerando el patrón electroforético de las 20 líneas segregantes, se conformaron dos grupos, uno conteniendo las líneas con el patrón del progenitor Ac7643, integrado

por cinco líneas, y un segundo grupo integrado por 14 líneas que mostraron el patrón electroforético de B39, se realizaron contrastes estadísticos (Cuadro 6.6).

**Cuadro 6.6.** Contrastes no ortogonales de las expresiones fenotípicas bajo sequía de rendimiento de grano, peso de 100 granos y floración femenina, a través del patrón de bandeado generado por el marcador SSR bnlg1863.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Pr > F
<b>Rendimiento de grano (t ha<sup>-1</sup>)</b>				
Repeticiones	3	0.11	0.04ns	0.1288
Líneas	23	14.11	0.61**	0.0001
<b>B39 vs Ac7643</b>	<b>1</b>	<b>3.32</b>	<b>3.32**</b>	<b>0.0001</b>
Error	69	1.24	0.02	
CV (%)		25.81		
<b>Floración femenina (d)</b>				
Repeticiones	3	19.70	6.57ns	0.1352
Líneas	23	576.24	25.05**	0.0001
<b>B39 vs Ac7643</b>	<b>1</b>	<b>95.56</b>	<b>95.56**</b>	<b>0.0001</b>
Error	69	236.55	3.43	
CV (%)		2.16		
<b>Peso de 100 granos (g)</b>				
Repeticiones	3	12.64	4.21ns	0.3525
Líneas	23	700.10	30.44**	0.0001
<b>B39 vs Ac7643</b>	<b>1</b>	<b>0.56</b>	<b>0.56ns</b>	<b>0.7030</b>
Error	69	262.82	3.81	
CV (%)		12.68		

Los contrastes estadísticos se realizaron entre los grupos de líneas descritos y utilizando los datos del ambiente de sequía de las características del rendimiento de grano, floración femenina y peso de 100 grano. Los análisis de varianza revelaron que, tanto en el rendimiento de grano, como en la floración femenina, existieron diferencias

altamente significativas entre el grupo de líneas evaluadas; en tanto que para el peso de 100 granos no se encontró diferencia significativa. Lo que significa que el patrón electroforético generado por el marcador SSR bnlg1863, se encuentra asociado a loci que controlan la expresión fenotípica tanto del rendimiento de grano, como de la floración femenina. Por lo que, considerando el locus del marcador bnlg1863, la región genómica del cromosoma ocho de maíz (Bin 8.03) es importante en la expresión fenotípica del rendimiento de grano y floración femenina, la asociación del patrón electroforético y el rendimiento de grano explica el 23.5 % de la variación fenotípica total de ésta característica y 16.6 % de la variación total en la floración femenina. La región genómica identificada en este estudio conteniendo loci que regulan la floración femenina coinciden con la región descrita por Ribaut *et al.* (1999) para el intervalo anthesis-emergencia de estigmas.

## 6.6. CONCLUSIONES

Las líneas S<sub>2</sub> segregantes de maíz manifestaron un alto grado de variación genética en todas las características medidas (FM, FF, ASI, AP, AM, P100G Y RG). El nivel de sequía inducida fue suficiente para reducir el rendimiento de grano en un 81.5 % en las líneas susceptibles y causar un retraso de 7.2 días en el ASI del ambiente de sequía. En cuanto a la correlación fenotípica se encontró que el rendimiento de grano aunque no se correlacionó con el intervalo anthesis-emergencia de estigmas, si se correlacionó negativa y altamente significativamente con la floración femenina en un 65 %, de manera la que la línea de mayor rendimiento mostró mayor precocidad en la aparición de estigmas. Se determinó asociación estadística importante entre las bandas producidas por el marcador bnlgl1863 y la expresión contrastante del rendimiento y floración femenina, explicando el polimorfismo de bandas en un 23.5 % de la variación total del rendimiento y de un 16.6% en la floración femenina.

## 6.7. LITERATURA CITADA

- Almeida, G. D.; D. Makumbi; C. Magorokosho; S. Nair; A. Borém; J. M. Ribaut; M. Bänziger; B. M. Prasanna; J. Crossa; and R. Babu. 2013. QTL mapping in three tropical maize populations reveals a set of constitutive and adaptive genomic regions for drought tolerance. *Theoretical Applied Genetics* 126:583-600.
- Bänziger, M.; G.O. Edmeades; D. Beck; y M. Bellon. 2012. Mejoramiento para aumentar la tolerancia a sequía y a deficiencia de nitrógeno en el maíz: De la teoría a la práctica. México, D.F. CIMMYT.
- Bernardo, R. 2008. Molecular markers and selection for complex traits in plants: Learning from the last 20 years. *Crop Science* 48:1649–1664.
- Dubey, L.; B. M. Prasanna; and B. Ramesh. 2009. Analysis of drought tolerant and susceptible maize genotypes using SSR markers tagging candidate genes and consensus QTLs for drought tolerance. *Indian Journal Genetics and Plant Breeding* 69:344–351.
- Edmeades, G.O. 2013. Progress in Achieving and Delivering Drought Tolerance in Maize - An Update, ISAAA: Ithaca, NY. 44p.
- Ertiro, B. T; Y. Beyene; B. Das; S. Mugo; M. Olsen; S. Oikeh; C. Juma; M. Labuschagne; and B. M. Prasanna. 2017. Combining ability and testcross performance of drought-tolerant maize inbred lines under stress and non-stress environments in Kenya. *Plant breeding* 136:197-205.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2017. Anuario estadístico y geográfico de Morelos 2017. Mexico. 502p.

Li, C.; B. S; Y. Li; C. Liu;, X. Wu; D. Zhang; Y. Shi; Y. Song; E. S. Buckler; Z. Zhang; T. Wang; and Y. Li. 2016. Numerous genetic loci identified for drought tolerance in the maize nested association mapping populations. *Bio Med Central Genomics* 17:894-904.

Maize Genetics Data Base (MAIZEGDATABASE). 2020. SSR record at Maize Genetics DataBase. [https://www.maizegdb.org/data\\_center/ssr?id=145532](https://www.maizegdb.org/data_center/ssr?id=145532). Fecha de acceso: 10 de junio 2020.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2018. 2017 The impact of disasters and crises on agriculture and food security. [www.fao.org/publications](http://www.fao.org/publications). Fecha de acceso:30 de mayo 2019.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2020. Datos sobre alimentación y agricultura. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>. Fecha de acceso: 5 de mayo 2020.

Qayyum, A.; S. Ahmad; S. Liaqat; W. Malik; E. Noor; H. M. Saeed; and M. Hanif. 2012. Screening for drought tolerance in maize (*Zea mays* L.) hybrids at an early seedling stage. *African Journal of Agricultural Research* 7:3594-3604.

Ribaut, J. M; C. Jiang; D. Gonzalez-de-León; G. O. Edmeades; and D. A. Hoisington. 1997. Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. 2. Yield components and marker-assisted selection strategies. *Theoretical Applied Genetics* 94:887-896.

Ribaut, J.M.; D. Hoisingtog; M. Bänziger; T. L. Stter; and O. G. Edmeades. 2004. Genetic dissection of drought tolerance in maize: a case study. pp. 571–609. In: Nguyen, H.T. and A. Blum. (Eds). *Physiology and Biotechnology Integration for Plant Breeding*. Marcel Dekker.

- Ribaut, J. M.; D. A. Hoisington; J. A. Deutsch; C. Jiang; and D. Gonzalez-de-Leon 1996. Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. 1. Flowering parameters and the anthesis-silking interval. *Theoretical Applied Genetics* 94:887-896.
- Ribaut, J. M.; M. Banziger; J. Betran; C. Jiang. 2002. Use of molecular markers in plant breeding: drought tolerance improvement in tropical maize. pp. 85–99. In: M.S., Kang, (ed.). *Quantitative Genetics, Genomics, and Plant Breeding*. CABI Publishin.
- Shiri, M. 2011. Identification of informative simple sequence repeat (SSR) markers for drought tolerance in maize. *African Journal of Biotechnology*.10:16414–16420.
- Sibov, S.T.; C. Lopes d S. JR.; A. A. Franco G.: A. Rezende S.; A. Franco G; C. APARECIDA M.; L. LASRY B.: and A. PEREIRA d S. 2003. Molecular mapping in tropical maize (*Zea mays* L.) using microsatellite markers. 2. Quantitative trait loci (QTL) for grain yield, plant height, ear height and grain moisture. *Hereditas* 139:107-115.
- Trujillo, C. A. 2002. Guía para cultivar maíz bajo condiciones de riego en el estado de Morelos. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro de Investigación Regional del Centro Campo Experimental Zacatepec. 19 p.
- Tuberosa, R.; S. Salvi; S. Giuliani, M. C. Sanguineti; M. Bellotti; S. Conti; and P. Landi. 2007. Genome-wide Approaches to Investigate and Improve Maize Response to Drought. *Crop Science* 47:120-141.
- Wang, B.; C. Liu; D. Zhang; C. He; J. Zhang; and Z. Li. 2019. Effects of maize organ-specific drought stress response on yields from transcriptome analysis. *Bio Med Central Plant Biology* 19:335-353.

Xu, J.; Y. Yuan; Y. Xu; G. Zhang; X. Guo; F. Wu; Q. Wang; T. Rong; G. Pan; M. Cao; Q. Tang; S. Gao; Y. Liu; J. Wang; H. Lan; and Y. Lu. 2014. Identification of candidate genes for drought tolerance by whole-genome resequencing in maize. *Bio Med Central Plant Biology* 14:83-97.

Xue, Y.; M. L. Warburton; M. Sawkins; X. Zhang; T. Setter; Y. Xu; P. Grudloyma; J. Gethi; J. M. Ribaut; W. Li; X. Zhang; Y. Zheng; and J. Yan. 2013. Genome-wide association analysis for nine agronomic traits in maize under well-watered and water-stressed conditions. *Theoretical Applied Genetics* 126:2587-2596.

## CAPITULO VII

### BIBLIOGRAFIA GENERAL

- Agrama, H.A.S.; and M.E. Moussa. 1996. Mapping QTLs in breeding for drought tolerance in maize (*Zea mays* L.). *Euphytica* 91:89-97.
- Alejos, H.; Monasterio, P. y Rea. R. 2006. Análisis de la interacción genotipo ambiente para el rendimiento de maíz en la región maicera del estado Yaracuy, Venezuela. *Agronomía Tropical* 56:370-384.
- Almeida, G. D.; D. Makumbi; C. Magorokosho; S. Nair; A. Borém; J. M. Ribaut; M. Bänziger; B. M. Prasanna; J. Crossa; and R. Babu. 2013. QTL mapping in three tropical maize populations reveals a set of constitutive and adaptive genomic regions for drought tolerance. *Theoretical Applied Genetics* 126:583-600.
- Attipalli, R. R.; Kolluru V. C.; Munusamy V. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant Metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology* 161:1189-1202.
- Avendaño, A. C. H.; Trejo, L. C.; López C. C.; Molina, G. J. D.; Santacruz, V. A. y Castillo, G. F. 2005. Comparación de la tolerancia a la sequía de cuatro variedades de maíz (*Zea mays*) y su relación con la acumulación de prolina. Venezuela. *Interciencia* 30:560-564.
- Badu-Apraku, B.; Akinwale, R. O.; Ajala, S. O.; Menkir, A.; Fakorede, M. A. B. and Oyekunle, M. 2011. Relationships among traits of tropical early maize cultivars in contrasting environments. *Agronomy Journal* 103:717-729. doi:10.2134/agronj2010.0484

- Bänziger, M.; G.O. Edmeades; D. Beck; and M. Bellon. 2000. Breeding for Drought and Nitrogen Stress Tolerance: From Theory to Practice. México, D.F.: CIMMYT. p.68.
- Bänziger, M.; G.O. Edmeades; D. Beck; y M. Bellon. 2012. Mejoramiento para aumentar la tolerancia a sequía y a deficiencia de nitrógeno en el maíz: De la teoría a la práctica. México, D.F. CIMMYT.
- Bernardo, R. 2008. Molecular markers and selection for complex traits in plants: Learning from the last 20 years. *Crop Science* 48:1649-1664.
- Blum, A. 1988. Plant breeding for stress environments. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Bolaños, J.; and G. O. Edmeades 1993. Eight cycles of selection for drought tolerance in lowland tropical maize. II. Responses in reproductive behavior. *Field Crops Research*. 31:253-268.
- Bravo, L. A. G; H. Salinas G.; y A. Rumayor R. 2006. Sequía: Vulnerabilidad, impacto y tecnología para afrontarla en el Norte Centro de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias Centro de Investigación Regional Norte-Centro Campo Experimental Zacatecas. México 1-300 p.
- Bruce, W. B.; Edmeades, G. O. and Barker, T.C. 2002. Molecular and physiological approaches to maize improvement for drought tolerance. *Journal of Experimental Botany* 53:13-25. doi.org/10.1093/jexbot/53.366.13.
- Castillo-Gutierrez, A. 2004. Drought tolerance and genetic diversity among tropical maize inbred lines. Doctoral Dissertation. University of Nebraska-Lincoln. Lincoln, NE, USA. 112 p.

- Chapman, S.C.; and G.O. Edmeades. 1999. Selection improves drought tolerance in tropical maize populations. II. Direct and correlated responses among secondary traits. *Crop Science* 39:1315-1324.
- Chaves, M. M.; J. P. Maroco; and J. S. Pereira. 2003. Understanding plant responses to drought—from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology* 30:239-264.
- Chinnusamy, V.; K. Schumaker y J. K. Zhu. 2004 Molecular genetic perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signalling in plants. *Journal of Experimental Botany* 395:225-236.
- Collard, B.C.Y.; Jahufer M.Z.Z.; Brouwer J.B.; y Pang E.C.K. 2005. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica* 142:169-196.
- Comisión Nacional de Zonas Áridas. Unidad de Sequía, Desertificación y Proyectos Especiales (CONAZA). 2010. Boletín Divulgativo No. 2. [www.conaza.gob.mx](http://www.conaza.gob.mx) (diciembre de 2011).
- Daryanto, S.; L. Wang; and J. Pierre-André. 2016. Global synthesis of drought effects on maize and wheat production. *PLoS ONE* 5:1-15. doi:10.1371/journal.pone.0156362.
- DTMA. 2015. A new generation of maize for Africa. [www.cimmyt.org/index.php/publications/doc\\_view/196-a-newgeneration-of-maize-for-africa](http://www.cimmyt.org/index.php/publications/doc_view/196-a-newgeneration-of-maize-for-africa). Accessed 7 Nov 2018.
- Dubey, L.; B. M. Prasanna; and B. Ramesh. 2009. Analysis of drought tolerant and susceptible maize genotypes using SSR markers tagging candidate genes and consensus QTLs for drought tolerance. *Indian Journal Genetics and Plant Breeding* 69:344–351.

- Duvick, D.N. 1997. What is yield? p. 332-335. *In*. G.O. Edmeades, M. Banziger, H.R. Mikelson, and C.B. Peña-Valdivia (ed.) Developing drought and low-N tolerant lines. El Batán, México. CIMMYT.
- Duvick, D.N. 2001. Biotechnology in the 1930s: the development of hybrid maize. *Nature Reviews. of Genetics* 2:69-74.
- Edmeades, G.O. 2013. Progress in Achieving and Delivering Drought Tolerance in Maize - An Update, ISAAA: Ithaca, NY. 44 p.
- Edmeades, G. O., J. Bolaños, and H. R. Lafitte. 1992. Progress in breeding for drought tolerance in maize. p. 93-111. *In*. D. Wilkinson (ed.). Proc. Annu. Corn and Sorghum Ind. Res. Conf., 47<sup>th</sup>, Chicago 9-10 Dec. 1992. ASTA, Washington. D.C.
- Edmeades, G. O.; Bolaños, J; Chapman, S. C.; Lafitte, H. R. and Bänzinger M. 1999. Selection improves drought tolerance in tropical maize populations: I. Gains in biomass, grain yield, and harvest index. *Crop Science* 39:1306-1315.
- Ertiro, B. T; Y. Beyene; B. Das; S. Mugo; M. Olsen; S. Oikeh; C. Juma; M. Labuschagne; and B. M. Prasanna. 2017. Combining ability and testcross performance of drought-tolerant maize inbred lines under stress and non-stress environments in Kenya. *Plant breeding* 136:197-205.
- Esparza, M. 2014. La sequía y escasez de agua en México. Situación actual y perspectivas futuras. *Secuencia* 89:195-219.
- Estrada, P. W.; Jerez M. E.; Nápoles, G. M. C.; Sosa, R. A.; Maceo, R. Y. C. y Cordoví, D. C. 2016. Respuesta de cultivares de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) a la sequía

utilizando diferentes índices de selección. *Cultivos Tropicales* 37:79-84. doi.org/10.13140/RG.2.1.5181.2082.

Falconer, D. S. 1984. Introducción a la Genética Cuantitativa. F. Márquez S. (trad) Editorial CECSA. 14° imp. México. 430 p.

Fehr, W. R. 1993. Principles of cultivar development. Iowa State University Press V 1. Ames Iowa USA. 219-245 pp.

Fernandez, G. C. J. 1992. Effective selection criteria for assessing stress tolerance. In: Kuo, C.G. (Ed.), Proceedings of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and Other Food Crops in Temperature and Water Stress, Publication, Tainan, Taiwan.

Fischer, K. S.; E. C. Johnson; and G. O. Edmeades. 1984. Mejoramiento y selección de maíz tropical para incrementar su resistencia a la sequía. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, CIMMYT, El Batán, México. 20 p.

Fischer, K. S.; Edmeades, G. O. and Johnson, E. C. 1989. Selection for the improvement of maize yield under moisture-deficits. *Field Crops Research*. 22:227-243. doi.org/10.1016/0378-4290(89)90094-4.

Fischer, R. A. and Maurer, R. 1978. Drought resistance in spring wheat cultivars. Grain yield responses. *Aust. J. Agric. Res.* 29:897-912. doi.org/10.1071/AR9780897.

Golbashy, M.; Ebrahimi, M.; Khavari, K. S. and Choukan, R. 2010. Evaluation of drought tolerance of some corn (*Zea mays* L.) hybrids in Iran. *African Journal of Agricultural Research* 5:2714-2719.

- Hao, Z.; X. Li; C. Xie; J. Weng; M. Li; D. Zhang; X. Liang; L. Liu; S. Liu; and S. Zhang. 2011. Identification of functional genetic variations underlying drought tolerance in maize using SNP markers. *Journal of Integrative Plant Biology*. 53:641-652.
- Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA) Coordinación de Hidrología. 2014. Programa de medidas preventivas y de mitigación de la sequía. Morelos, México 78 p.
- Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática (INEGI). 2008. Anuario Estadístico de Morelos. 1<sup>era</sup> edición, Editorial. Méx., Tomo II. P. 461.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2017. Anuario estadístico y geográfico de Morelos 2017. Mexico. 502 p.
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). 2017. Reporte estación. <http://clima.inifap.gob.mx/>. (diciembre 2017).
- Khalili, M.; Reza, N. M.; Pour, A. A. and Naseri, R. H. 2013. Effects of Drought Stress on Yield and Yield Components in Maize cultivars (*Zea mays* L.). *International Journal Agronomy Plant Production* 4:809-812.
- Li, C.; B. S; Y. Li; C. Liu;, X. Wu; D. Zhang; Y. Shi; Y. Song; E. S. Buckler; Z. Zhang; T. Wang; and Y. Li. 2016. Numerous genetic loci identified for drought tolerance in the maize nested association mapping populations. *BMC Genomics* 17:894-904.
- López, S. E.; Tosquy, V. O. H.; Ugalde, A. F. J. y Acosta, G. J. A. 2008. Rendimiento y tolerancia a sequía de genotipos de frijol negro en el estado de Veracruz. *Revista Fitotecnia Mexicana* Número especial 31:35-39.
- Madueño, M. J. 2017. La fertilización nitrogenada en maíz y su impacto ambiental. *Enlace la revista de la agricultura de conservación* 40:38-41.

- Maize Genetics Data Base (MAIZEGDATABASE). 2020. SSR record at Maize Genetics DataBase. [https://www.maizegdb.org/data\\_center/ssr?id=145532](https://www.maizegdb.org/data_center/ssr?id=145532). Fecha de acceso: 10 de junio 2020.
- Mendoza, L. A.; J. F. Aguirre M.; F. J. Cruz C.; L. Iracheta D.; M. G. Vázquez C. y C. H. Avendaño A. 2012. Efecto de la suspensión del riego en prefloración y llenado de grano en el contenido de lisina, triptófano y rendimiento en dos maíces de alta calidad proteínica. *Interciencia* 37:363-361.
- Messina, D. C.; Sinclair, R. T.; Hammer, L.G.; Curan, D.; Thompson, J.; Oler, Z.; Gho, C. and Cooper, M. 2015. Limited-transpiration trait may increase maize drought tolerance in the US corn belt. *Agronomy Journal* 107:1978-1986. doi:10.2134/agronj15.0016.
- Mishra, A. K.; and V. P. Singh. 2010. A review of drought concepts. *Journal Hydrology* 391:202-216.
- Mohammadi, R. 2016. Efficiency of yield-based drought tolerance indices to identify tolerant genotypes in durum wheat. *Euphytica* 211:71-89.
- Mukherjee, S.; A. Mishra; and K. E. Trenberth. 2018. Climate change and drought: a perspective on drought indices. *Current Climate Change Reports* 4:145-163.
- Nunccio, M. L.; M. Paul; N. J. Bate; J. Cohn; and S. R. Cutler. 2018. Where are the drought tolerant crops? An assessment of more than two decades of plant biotechnology effort in crop improvement. *Plant science* 273:110-119.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2018. 2017 The impact of disasters and crises on agriculture and food security. [www.fao.org/publications](http://www.fao.org/publications). Fecha de acceso:30 de mayo 2019.

Organización de la Naciones Unidas para Agricultura y la Alimentación (FAO/FAOSTAT). 2017. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Revisado: 23 de febrero de 2019.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2020. Datos sobre alimentación y agricultura. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>. Fecha de acceso: 5 de mayo 2020.

Ortega, G. D. 2013. Sequía: causas y efectos de un fenómeno global. *Ciencia Universidad Autónoma Nuevo León* 16:8-15.

Pervez H. Zaidi, 2019. Management of drought stress in field phenotyping. CIMMYT, Mexico.

Qayyum, A.; S. Ahmad; S. Liaqat; W. Malik; E. Noor; H. M. Saeed; and M. Hanif. 2012. Screening for drought tolerance in maize (*Zea mays* L.) hybrids at an early seedling stage. *African Journal of Agricultural Research* 7:3594-3604.

Quesada-Montano B.; F. Wetterhall; I. K. Westerberg; H. G. Hidalgo; and S. Halldin. 2018. Characterising droughts in Central America with uncertain hydro-meteorological data. *Theoretical and Applied Climatology* <https://doi.org/10.1007/s00704-018-2730-z>.

Ramírez-Vallejo, P. 1992. Identification and estimation of heritabilities of drought related resistance traits in dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Ph. D. Diss. Michigan State Univ. East Lansing, Mi. USA. 320 p.

Rebolloza, H. H.; A. Castillo G.; V.E. Carapia R.; M. Andrade R.; O.G. Villegas T.; M.E. Núñez V.; R. Suárez R.; y F. Perdomo R. 2016. Estimación de parámetros

genéticos y selección de líneas S1 en una población segregante de maíz tropical. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 8:1893-1904.

Ribaut, J. M.; Betran, J.; Monneveux, P.; Setter, T. 2009. Drought tolerance in maize. In: Bennetzen, J. L. y S. C. Hake (eds.) *Handbook of Maize: Its Biology*, Springer, New York, pp. 311-314.

Ribaut, J. M.; C. Jiang; D. Gonzalez-de-León; G. O. Edmeades; and D. A. Hoisington. 1997. Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. 2. Yield components and marker-assisted selection strategies. *Theoretical Applied Genetics* 94:887-896.

Ribaut, J.M.; D. Hoisington; M. Bänziger; T. L. Stter; and O. G. Edmeades. 2004. Genetic dissection of drought tolerance in maize: a case study. pp. 571–609. In: Nguyen, H.T. and A. Blum. (Eds). *Physiology and Biotechnology Integration for Plant Breeding*. Marcel Dekker.

Ribaut, J. M.; D. A. Hoisington; J. A. Deutsch; C. Jiang; and D. Gonzalez-de-Leon 1996. Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. 1. Flowering parameters and the anthesis-silking interval. *Theoretical Applied Genetics* 92:887-896.

Ribaut, J. M.; M. Banziger; J. Betran; C. Jiang. 2002. Use of molecular markers in plant breeding: drought tolerance improvement in tropical maize. pp. 85–99. In: M.S., Kang, (ed.). *Quantitative Genetics, Genomics, and Plant Breeding*. CABI Publishin.

Ritchie, S. W.; J. J. Hanway; and G. O. Benson. 1992. How a corn plant develops. Special Report No. 8. Iowa State University of Science and Technology. Cooperative Extension Service Ames, Iowa.

- Rosielle, A.A. and Hamblin J. 1981. Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress Environments. *Crop Science* 21:943-946.
- Saini, H. S. and Westgate, M. E. 2000. Reproductive development in grain crops during drought. *Advances in Agronomy* 68:59-96. doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60843-3.
- Salinas, Z. C. A.; Lluch, B. D.; Hernández, V. S. y Lluch, C. D. B. 1998. La aridez en el noreste de México. Un análisis de variabilidad espacial y temporal. *Atmósfera* 11:29-44.
- Sari-Gorla, M.; P. Krajewski; and N. Di Fonzo. 1999. Genetic analysis of drought tolerance in maize by molecular markers. II. plant height and flowering. *Theoretical Applied Genetics* 99:289-295.
- Statistical Analysis System Institute (SAS). 2009. SAS user's guide. Statistics. Versión 8.2. SAS Inst. Cary, N. C.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2017. Cierre de la producción agrícola por estado SIAP-SAGARPA. [http://www.nube.siap.gob.mx/cierre\\_agricola/](http://www.nube.siap.gob.mx/cierre_agricola/). (Diciembre 2017).
- Servicio Meteorológico Nacional (SMN). 2017. Monitor de sequía en México. <http://smn.cna.gob.mx/es/climatologia/monitor-de-sequia/monitor-de-sequia-en-mexico>. (Enero, 2018).
- Shafiq, S.; Akram, N. A. y Ashraf, M. 2015. Does exogenously-applied trehalose alter oxidative defense system in the edible part of radish (*Raphanus sativus* L.) under water deficit conditions?. *Scientia Horticulturae* 185:68-75. doi.org/10.1016/j.scienta.2015.01.010.

- Shiri, M. 2011. Identification of informative simple sequence repeat (SSR) markers for drought tolerance in maize. *African Journal of Biotechnology*.10:16414-16420.
- Sibov, S.T.; C. Lopes d S. JR.; A. A. Franco G.: A. Rezende S.; A. Franco G; C. APARECIDA M.; L. LASRY B.: and A. PEREIRA d S. 2003. Molecular mapping in tropical maize (*Zea mays* L.) using microsatellite markers. 2. Quantitative trait loci (QTL) for grain yield, plant height, ear height and grain moisture. *Hereditas* 139:107–115.
- Srivastava, N. and Kumar, G. 2014. Influence of water deficit on morphological characteristics of green manure crop (Dhaincha) *Sesbania cannabina* Poir. *Unique Journal Pharmaceutical and Biological Sciences* 2:15-18.
- Stone, P. J.; Wilson, D. R. and Reid, J. B. 2001. Water deficit effects on sweet corn. I. water use, radiation use efficiency, growth, and yield. *Australian Journal of Agricultural Research* 52:103-113. doi.org/10.1071/AR99146.
- Tollenar, M., & E.A. Lee. 2002. Yield potential, yield stability and stress tolerance in maize. *Field Crops Research*. 75:161-169.
- Trachsel, S.; D. Sun; F. M. SanVicente; H. Zheng; G. N. Atlin; E. A. Suarez; R. Babu; and X. Zhang. 2016. Identification of QTL for early vigor and stay-green conferring tolerance to drought in two connected advanced backcross populations in tropical maize (*Zea mays* L.). *PLoS ONE* 3:1-22. doi.10.1371/journal.pone.0149636.
- Trujillo, C. A. 2002. Guía para cultivar maíz bajo condiciones de riego en el estado de Morelos. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro de Investigación Regional del Centro Campo Experimental Zacatepec. 19 p.

- Tuberosa, R.; S. Salvi; S. Giuliani, M. C. Sanguineti; M. Bellotti; S. Conti; and P. Landi. 2007. Genome-wide Approaches to Investigate and Improve Maize Response to Drought. *Crop Science* 47:120-141.
- Vargas, S. J. E; Molina G. J. D.; Cervantes S. T. 1982. Selección masal y parámetros genéticos en la variedad de maíz Za. 58. *Agrociencia* 48:93-105.
- Vinocur, B. y A. Altman. 2005. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. *Biotechnology* 16:123-132.
- Walsh, B. 2001. Quantitative genetic. Encyclopedia of life sciences. Nature Publishing Group. (1-7).
- Wang, B.; C. Liu; D. Zhang; C. He; J. Zhang; and Z. Li. 2019. Effects of maize organ-specific drought stress response on yields from transcriptome analysis. *Bio Med Central Plant Biology* 19:335-353.
- Westgate, M. E. and Boyer J. S. 1986. Reproduction at low silk and pollen water potentials in maize. *Crop Science* 26:951-956. doi.10.2135/cropsci1986.0011183X002600050023x.
- Wilhite, D. A. 2000. Drought as a natural hazard. *In: Drought: A Global Assessment.* (ed). Routledge Publishers, London, UK. pp: 3-18.
- Winter, P. & G. Kahl, 1995. Molecular marker technologies for plant improvement. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 11:438-448.
- Xu, J.; Y. Yuan; Y. Xu; G. Zhang; X. Guo; F. Wu; Q. Wang; T. Rong; G. Pan; M. Cao; Q. Tang; S. Gao; Y. Liu; J. Wang; H. Lan; and Y. Lu. 2014. Identification of candidate genes for drought tolerance by whole-genome resequencing in maize. *Bio Med Central Plant Biology* 14:83-97.

Xue, Y.; M. L. Warburton; M. Sawkins; X. Zhang; T. Setter; Y. Xu; P. Grudloyma; J. Gethi; J. M. Ribaut; W. Li; X. Zhang; Y. Zheng; and J. Yan. 2013. Genome-wide association analysis for nine agronomic traits in maize under well-watered and water-stressed conditions. *Theoretical Applied Genetics* 126:2587-2596.

Yihdego, Y.; B. Vaheddoost; and R. A. Al-Weshah. 2019. Drought indices and indicators revisited. *Arabian Journal of Geosciences* 12:69-80.

Zambrano, Z. E. E.; Limongi, A. J. R.; Alarcón, C. F. D.; Villavicencio, L. J. P.; Caicedo, V. M. B.; Egeuz, M. J. F. y Zambrano M. J. J. 2017. Interacción genotipo de híbridos de maíz bajo temporal en Manabí y los Ríos, Ecuador. *Espamciencia* 8:7-14.

Zargar, A.; R. Sadiq; B. Naser; and F. I. Khan. 2011. A review of drought indices. *Environmental Reviews* 19: 333-349.