

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE BIOLOGÍA**

**DETECCIÓN DE NUEVOS QTLs RELACIONADOS CON LA EFICIENCIA EN
LA TOMA DE FÓSFORO EN UNA POBLACIÓN SEGREGANTE DE MAÍZ F_{2:3}
(*Zea mays* L.) TOLERANTE A SUELOS ÁCIDOS EN LA ALTILLANURA
COLOMBIANA**

ALEXANDRA ORTIZ RODRÍGUEZ

**TRABAJO DE GRADO
presentado como requisito parcial
para optar al título de**

BIÓLOGA

**Bogotá, D. C.
Octubre 25 de 2002**

NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la Resolución N° 13 de Julio de 1946

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará por que no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y por que las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”.

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE LOS AUTORES PARA CONSULTA Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA

Ciudad y Fecha

Señores
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Ciudad

Estimados Señores:

Yo (nosotros) Alexandra Ortiz Rodríguez y Alejandro Alberto Navas Arboleda, identificado (s) con C.C. No. 52694806 de Bogotá y 70115770 de Medellín, autor (es) del trabajo de grado titulado Detección de nuevos QTLs relacionados con la eficiencia en la toma de fósforo en una población segregante de maíz F_{2:3} (*zea mays* L.) tolerante a suelos ácidos en la Altillanura Colombiana, presentado como requisito para optar al título de bióloga en el año de 2003; autorizo(amos) a la Universidad Javeriana a:

- a) Reproducir el trabajo en medio digital o electrónico con el fin de ofrecerlo para la consulta en la Biblioteca General.
- b) Poner a disposición para la consulta con fines académicos, en la página web de la Facultad, de la Biblioteca General y en redes de información con las cuales tenga convenio la Universidad Javeriana.
- c) Enviar el trabajo en formato impreso o digital, en caso de que sea seleccionado para participar en concursos de trabajos de grado.
- d) Distribuir ejemplares de la obra, para la consulta entre las entidades educativas con las que la facultad tenga convenio de intercambio de información, para que este sea consultado en las bibliotecas y centros de documentación de las respectivas entidades.
- e) Todos los usos, que tengan finalidad académica.

Los derechos morales sobre el trabajo son de los autores de conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables. Atendiendo lo anterior, siempre que se consulte la obra, mediante cita bibliográfica se debe dar crédito al trabajo y a su (s) autor (es). Este documento se firma, sin perjuicio de los acuerdos que el autor (es) pacte con la Unidad Académica referentes al uso de la obra o a los derechos de propiedad industrial que puedan surgir de la actividad académica.

**DETECCIÓN DE NUEVOS QTLs RELACIONADOS CON LA EFICIENCIA EN
LA TOMA DE FÓSFORO EN UNA POBLACIÓN SEGREGANTE DE MAÍZ F_{2:3}
(*Zea mays* L.) TOLERANTE A SUELOS ÁCIDOS EN LA ALTILLANURA
COLOMBIANA**

ALEXANDRA ORTIZ RODRÍGUEZ

APROBADO

Alejandro A. Navas Arboleda,
I.A.Ph. D. Agrónomo
Director

Giovanni Cancino
I. A. Ph. D. Biólogo
Asesor

Elizabeth Hodson de Jaramillo
I.A. Ph. D. Bióloga
Jurado

Ramiro Ramirez Pisco
I.A. MSc Agrónomo
Jurado

**DETECCIÓN DE NUEVOS QTLs RELACIONADOS CON LA EFICIENCIA EN
LA TOMA DE FÓSFORO EN UNA POBLACIÓN SEGREGANTE DE MAÍZ F_{2:3}
(*Zea mays* L.) TOLERANTE A SUELOS ÁCIDOS EN LA ALTILLANURA
COLOMBIANA**

ALEXANDRA ORTIZ RODRÍGUEZ

APROBADO

Dra. Ángela Umaña Muñoz.
M. Phil

Decana Académica

Luz Mercedes Santamaría
Bióloga.

Directora (E) de carrera

FORMATO DESCRIPCIÓN TRABAJO DE GRADO

AUTOR O AUTORES

Apellidos	Nombres
Ortiz Rodríguez	Alexandra

DIRECTOR (ES)

Apellidos	Nombres
Navas Arboleda	Alejandro Alberto

ASESOR (ES) O CODIRECTOR

Apellidos	Nombres
Cancino	Giovanny

TRABAJO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE: Bióloga

TÍTULO COMPLETO DEL TRABAJO: Detección de nuevos QTLs relacionados con la eficiencia en la toma de fósforo en una población segregante de maíz F_{2,3} (*zea mays* l.) tolerante a suelos ácidos en la Altillanura Colombiana.

SUBTÍTULO DEL TRABAJO: _____

FACULTAD: Ciencias Básicas

PROGRAMA: Carrera Especialización _____ Maestría _____ Doctorado _____

NOMBRE DEL PROGRAMA: Biología

CIUDAD: BOGOTA AÑO DE PRESENTACIÓN DEL TRABAJO: 2002

NÚMERO DE PÁGINAS 101

TIPO DE ILUSTRACIONES:

Ilustraciones

Mapas

Retratos

Tablas, gráficos y diagramas

Planos

Láminas

Fotografía

MATERIAL ANEXO (VÍdeo, audio, multimedia o producción electrónica):

Duración del audiovisual: _____ Minutos.

Número de casetes de vídeo: _____ Formato: VHS ____ Beta Max ____ ³/₄ ____

Beta Cam ____ Mini DV ____ DV Cam ____ DVC Pro ____ Vídeo 8 ____ Hi 8

Otro. Cual? _____

Sistema: Americano NTSC _____ Europeo PAL _____ SECAM _____

Número de casetes de audio: _____

Número de archivos dentro del CD (En caso de incluirse un CD-ROM diferente al trabajo de grado: _____

DESCRIPTORES O PALABRAS CLAVES.

QTLs, microsatélites, mapa de ligamiento, población segregante, mejoramiento asistido por marcadores moleculares.

RESUMEN DEL CONTENIDO

Por medio de marcadores moleculares microsatélites fue generado un mapa de ligamiento para una población segregante de maíz, tolerante a suelos ácidos en la Altillanura Colombiana, en esta misma población de estudio fueron identificados 28 nuevos QTLs relacionados con la eficiencia en la toma de fósforo, el cual es el segundo factor limitante en el marco de suelos ácidos.

DEDICATORIA

A mi Papá por que en todo momento sus consejos me dieron seguridad
A mi Mamá por su comprensión, apoyo y colaboración
A mis hermanos por animarme a seguir adelante
A Javier por creer en mi y enseñarme a tener fortaleza en los momentos más difíciles.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por su apoyo constante durante el desarrollo del trabajo

Al Doctor Alejandro Navas, Gerente General del Plan Nacional de Maíz, por la dirección y coordinación de la presente investigación.

Al Doctor Giovanni Cancino, profesor del departamento de Biología Molecular Vegetal de la Pontificia Universidad Javeriana, por su asesoría.

Al Doctor Victor Manuel Nuñez, director del Programa Nacional de Recursos Genéticos y Biotecnología Vegetal, por su asesoría e importantes aportes al documento del trabajo.

Al **CIMMYT** Colombia especialmente al Doctor Luis Narro, al Doctor Carlos de León, a Claudio Romero y al Ingeniero Freddy Salazar, por sus comentarios y colaboración en el registro de las variables de campo.

A Javier Guillermo Mantilla, por la asesoría, correcciones, y colaboración prestada en el desarrollo del presente trabajo así como por su apoyo en la realización de la presentación.

A Edgar Benitez, investigador del Departamento de Biometría de **CORPOICA**, por su asesoría y colaboración con la ejecución del programa estadístico para los datos del trabajo.

Al Doctor Orlando Martinez, Director del Departamento de Biometría de la Universidad de los Andes, por su ayuda en el análisis de las pruebas estadísticas

A mis hermanas Angela, Lucia y Viviana, por su colaboración en la presentación e impresión del trabajo.

A Hernando Ruiz y Maribel Hernández por la colaboración prestada en la organización e impresión del documento del trabajo.

A la Doctora Elizabeth Aguilera, Investigadora del Plan Nacional de Manejo Integrado de Plagas y a Helio Carrillo, por la colaboración prestada en proporcionar el mapa del lugar de estudio.

A Andrés Gutiérrez, por su colaboración en el manejo de los programas para la obtención de resultados, así como por las correcciones hechas al documento del trabajo.

A Carolina Ospina por su constante apoyo, colaboración e interés en el desarrollo de la presente investigación.

A todos los compañeros del Plan Nacional de Maíz por su constante respaldo para que este trabajo se llevara a cabo.

TABLA DE CONTENIDO

	Pag
Artículo 23 de la Resolución N° 13 de Julio de 1946.....	2
<i>Ciudad y Fecha</i>	3
DEDICATORIA.....	9
<i>INDICE DE TABLAS</i>	15
<i>INDICE DE ABREVIATURAS</i>	18

INDICE DE FIGURAS

	Pág
Figura. 1 Ubicación de la finca Lagos de Menegua.	41
Figura. 2 Precipitación Siembra Lagos de Menegua – Meta 2002 A.	42
Figura. 3 Distribución de las medias ajustadas de la población $F_{2:3}$ para altura de planta.	49
Figura. 4 Distribución de las medias ajustadas de la población $F_{2:3}$ para prolificidad.	50
Figura. 5 Distribución de las medias ajustadas de la población $F_{2:3}$ para altura de mazorca.	50
Figura. 6 Electroforesis de ADN de los parentales p7 (SA5-HC1-1-5-1-1-1-7) y p8 (SA4-HC1-1-4-1-2-11-1) de la población F_2 con diferentes <i>primers</i> .	58
Figura. 7 Segregación de los alelos parentales en los genotipos de la población F_2 utilizando el <i>primer</i> microsatélite <i>bnlg 1360</i> .	58

- Figura. 8** Electroforesis de ADN de los parentales p7 (SA5-HC1-1-5-1-1-1-7) y p8 (SA4-HC1-1-4-1-2-11-1) de la población F₂ con diferentes *primers* relacionados con alguna característica del metabolismo del fósforo. 60
- Figura. 9** Patrón de segregación de bandas con los *primers* para el locus *phi 065* en algunos genotipos de la población segregante. 61
- Figura. 10** Mapa de ligamiento de la población segregante de maíz F₂ SA5-HC1 x SA4-HC7 desarrollado con 146 *primers* SSR en 220 individuos. 64
- Figura. 11** Mapa de ligamiento de la población segregante de maíz F₂ SA5-HC1 x SA4-HC7 desarrollado con 118 *primers* SSR en 220 individuos (Navas, 2000). 66

INDICE DE TABLAS

	Pág
Tabla 1 Correlación de Pearson de las características registradas en campo en el ambiente de bajo fósforo (LP).	47
Tabla 2 Correlación de Pearson de las características registradas en campo en el ambiente de bajo fósforo (HP).	48
Tabla 3 Valores de las familias 2 y 195 en las características de VOLR, AP, AM, FEM, MAS, ASI,PROLI y YLD en el ambiente de bajo fósforo (LP9	52
Tabla 4 Comparación de los 10 genotipos con mayor rendimiento de grano (YLD) en el ambiente de alto fósforo (HP).	55
Tabla 5 Comparación de los 10 genotipos con mayor rendimiento de grano (YLD) en el ambiente de alto fósforo (LP).	56
Tabla 6 QTLs encontrados para todas las características morfoagronómicas evaluadas en todos los ambientes (HP, LP y combinados) de fósforo.	69

INDICE DE ANEXOS

	Pág
ANEXO 1. Concentración y volumen de los componentes de la reacción de PCR	92
ANEXO 2. Programa estándar de PCR.	92
ANEXO 3. Temperaturas de alineamiento y detección de polimorfismos de <i>Primers</i> en los parentales SA5-HC1-1-5-1-1-1-7 x SA4-HC1-1-4-1-2-11-1.	93
ANEXO 4. Tratamientos de los lotes de siembra de la población segregante F _{2:3} de maíz.	95
ANEXO 5. Análisis de varianza para las características volumen radical (VOLR), altura de planta (AP), floración masculina (MAS), floración femenina (FEM), sincronía floral (ASI), altura de mazorca (AM), prolificidad y rendimiento de grano (YLD en la población de maíz F _{2:3} en el ambiente de alto fósforo.	96
ANEXO 6. Análisis de varianza para las características volumen radical (VOLR), altura de planta (AP), floración masculina (MAS), floración femenina (FEM),	

sincronía floral (ASI), altura de mazorca (AM), prolificidad y rendimiento de grano (YLD en la población de maíz F_{2:3} en el ambiente de bajo fósforo. 98

ANEXO 7. Análisis de varianza para las características volumen radical (VOLR), altura de planta (AP), floración masculina (MAS), floración femenina (FEM), sincronía floral (ASI), altura de mazorca (AM), prolificidad y rendimiento de grano (YLD en la población de maíz F_{2:3} en la combinación del los dos ambientes de fósforo (4 y 15 ppm). 100

INDICE DE ABREVIATURAS

AFLP: De las siglas en inglés *Amplified Fragment Length Polymorphism*, polimorfismos de longitud de fragmentos amplificados

AM: Altura de mazorca

AP: Altura de planta

ASI: Sincronía floral

AYA65: Localidad de Ayapel con 65 % de saturación de aluminio

CIC: Capacidad de intercambio catiónico

CIM: De las siglas en inglés *Composite Interval Mapping*, mapeo de intervalo compuesto, método estadístico de mapeo de QTL

cM: Centimorgan

CIMMYT: Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo

COM AS: Combinación de ambientes ácidos en Villavicencio con 55 y 65 % de saturación de aluminio y Ayapel con 65 % de saturación de aluminio

COM NS: Combinación de ambientes normales en Turipana y Palmira

CORPOICA: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria

Crossing over: Recombinación genética o intercambio de material cromosomal entre cromosomas homólogos

FEM: Floración femenina

FMAS: Floración masculina

ha: hectáreas

HMA: Hongos Micorrízicos Arbusculares

HP: Ambiente de alto fósforo

Km²: Kilómetros cuadrados

Likelihood: Máxima posibilidad de que un marcador molecular esté ligado

LOD: Logaritmo (10) de la relación entre dos hipótesis del ligamiento de dos marcadores

LP: Ambiente de bajo fósforo

LR: Razón del *likelihood* o el valor numérico de la máxima posibilidad de validar una hipótesis de que no se encuentra un QTL ligado a un marcador contra la hipótesis alterna de que si hay un QTL ligado a un marcador en una región en particular del genoma

MAS: De las siglas en inglés *Marker Assisted Selection*, selección Asistida por Marcadores Moleculares

mm: Milímetros

nF: Nano Faradios, medida de capacidad

P7: Parental 7

P8: Parental 8

PAL: Localidad en Palmira que presenta suelos normales

pb: Pares de bases de nucleótidos

PCR: De las siglas en inglés *Polymerase Chain Reaction*, reacción en cadena de la polimerasa

pH: Potencial de hidrogeniones

ppm: Partes por millón

PROLI: Prolificidad

QTL: De las siglas en inglés *Quantitative Trait Loci*, loci de características cuantitativas

R²: Porcentaje de la varianza fenotípica que es explicada por un QTL

RAPD: De las siglas en inglés *Random Amplified Polymorphic DNA*, polimorfismos de ADN amplificados al azar

RFLP: De las siglas en inglés *Restriction Fragment Length Polymorphism*, polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción

RIL: De las siglas en inglés *Recombinant Isogenic Lines*, líneas recombinantes altamente homocigotas

SAS: De las siglas en inglés *System Analysis Statistical*, sistema de análisis estadístico

SSR: De las siglas en inglés *Simple Sequence Repeat*, secuencias simples repetidas o microsatélites

t: Toneladas

TUR: Localidad en Turipaná que presenta suelos normales

ul: Microlitros

V55: Localidad en Villavicencio con 55% de saturación de aluminio

V65: Localidad en Villavicencio con 65% de saturación de aluminio

VOLR: Volumen radical

YLD: Rendimiento de grano

RESUMEN

La presente investigación fué parte del proyecto de “Desarrollo de genotipos tolerantes a estreses abióticos: sequía, bajo nitrógeno y precocidad para la costa atlántica y suelos ácidos (toxicidad por aluminio y bajo fósforo) para la altillanura colombiana” financiado por el Ministerio de Agricultura de Colombia, fue el primer trabajo en el país desarrollado en el ámbito de mejoramiento genético asistido por marcadores moleculares (MAS) que aborda, dentro del marco de estreses abióticos, el área de deficiencia de fósforo, uno de los principales factores limitantes de los suelos ácidos para la producción de los cultivos.

Los suelos ácidos son un problema complejo para la agricultura, debido a que reúnen diferentes componentes físicos, químicos y biológicos que restringen la productividad de los cultivos. Dentro de los componentes químicos de los suelos ácidos, el estrés por fósforo relacionado con altas concentraciones de aluminio son los principales factores limitantes. La carencia de fósforo es crítica al inicio del desarrollo de un cultivo puesto que disminuye el crecimiento de la planta, afectando de esta forma la producción.

Para comprender la naturaleza genética de las características relacionadas con estrés por fósforo es necesario integrar las posibles fuentes de variación para esta característica, y de esta forma establecer que resultados se encuentran controlados genéticamente. El objetivo del presente estudio fué detectar regiones del genoma que se encontraban relacionadas con la característica de eficiencia en la toma de fósforo en una población segregante $F_{2:3}$ de maíz (*Zea mays* L.). La metodología empleada para identificar regiones del genoma que se relacionan con rasgos de carácter

cuantitativo o QTLs consistió en dos etapas: la primera fue caracterizar morfoagronómicamente la población segregante por medio de variables que de alguna forma tuviesen relación con fósforo, y la segunda fue incluir nuevos marcadores moleculares microsatélites al mapa de ligamiento inicial construido para la población F₂ (SA5-HC1-1-5-1-1-1-7 x SA4 HC7 -1-4-1-2-11-1) por Navas (2000).

Fueron identificados 28 QTLs para las características volumen radical (VOLR), floración femenina (FEM), floración masculina (FMAS), sincronía floral (ASI), altura de planta (AP), altura de mazorca (AM), prolificidad (PROLI) y rendimiento de grano (YLD) en ambientes de fósforo de 4 ppm y 15 ppm y en los dos ambientes combinados.

Los QTLs identificados en el presente estudio fueron consistentes con los identificados por Navas (2000) para la población de maíz F_{2:3} (SA5-HC1-1-5-1-1-1-7 x SA4 HC7 -1-4-1-2-11-1). Por lo tanto, los resultados se están aproximando a regiones del genoma relacionadas con uno de los principales factores químicos de los suelos ácidos como es la deficiencia de fósforo para la población bajo estudio.

La presente investigación constituye la base para la detección de QTLs relacionados con la eficiencia en la toma de fósforo y la toxicidad por aluminio en maíz, que pueden ser incluidos en genotipos de maíz élite, de la misma forma los resultados del presente trabajo constatan los QTLs identificados para suelos ácidos en la misma población de estudio (Navas, 2000), y constituye una base para la identificación de regiones del genoma relacionadas con tolerancia a la toxicidad por aluminio para abordar los dos principales factores químicos que limitan la producción del cultivo de maíz en suelos ácidos tales como son las altas concentraciones de aluminio y los bajos niveles de fósforo.

1 INTRODUCCIÓN

Los cereales son la principal fuente de carbohidratos y proteínas en la alimentación humana (Flores *et al.*, 2001). Dentro de estos, el maíz es una planta que no sólo ha sido alimento de las culturas americanas, sino que hoy después de miles de años, continúa siendo parte importante de nuestra dieta diaria. También es usado como alimento para animales en forma de grano o de planta forrajera, y la industria lo utiliza en la elaboración de gran variedad de subproductos (De León, 2002).

Hoy en día, se consumen más de 2.000 subproductos derivados de este cereal tales como aceite de maíz extraído de la molienda húmeda, dextrinas y dextrosa, empleadas como pegantes de construcción gracias a las propiedades físicas y químicas del almidón del maíz, también es empleado como maltodextrinas y pirodextrinas de uso industrial en papelería y textilería. En industria de harinas preparadas, vinos, licores, alimentos deshidratados para consumo humano, así como en balanceados y concentrados para alimentación animal (Ospina, 1999).

El maíz se encuentra entre los cereales mas cultivados en el mundo y ocupa el segundo lugar en producción mundial después del trigo, seguido en tercer lugar por el arroz (Ospina, 1999). La producción mundial anual de maíz es de 609'181.620 de toneladas (FAO, 2002) y el consumo per cápita mundial promedio es de 25,17 kilos (Todomaiz, 2002). Estados Unidos es el mayor productor con 241 millones de toneladas (FAO, 2002) que corresponden a mas del 40 % de la producción mundial. Le siguen China con el 20 % y Europa con 6 % de la producción mundial. México, el cuarto productor en el mundo produce cerca de 14 millones de toneladas de grano

anualmente en 6.5 millones de hectáreas es decir, 3 % del total de la producción mundial.

La producción promedio por hectárea (ha) en Colombia asciende a 2.183,4 kg en un área cosechada de 618.552 ha, para un total de 1.350.546.437 kg. de maíz (FAO, 2002). El 25% del total del cultivo de maíz para el año 2002 se realiza a nivel industrial o tecnificado el cual se desarrolla en terrenos planos, generalmente en extensiones superiores a las cinco hectáreas, la preparación del terreno que incluye la siembra y la aplicación de insumos se lleva a cabo por medio de maquinaria, adicionalmente se hace uso de semilla mejorada, técnicas de fertilización y control de plagas y malezas, alcanzando así una producción promedio de 2,8 toneladas por hectárea (De León, 2002).

El restante 75% se realiza por medio de cultivo tradicional en extensiones menores a cinco hectáreas desarrollándose en terrenos de ladera, áreas de colonización o zonas de cultivo donde los suelos son pobres y presentan déficit en precipitación, por lo tanto la producción alcanza apenas un promedio de 1,5 toneladas por hectárea (De León, 2002) y no se hace uso de maquinaria por lo cual las prácticas de cultivo se llevan a cabo de acuerdo con las tradiciones transmitidas oralmente (Ospina, 1999).

El maíz es cultivado en más de 80 millones de hectáreas en países en desarrollo, gran parte de estas hectáreas se ubican en los trópicos y subtrópicos, de países como Ecuador, Perú, Venezuela y Colombia. Estos países presentan un ambiente de producción que difiere en gran medida de las áreas templadas de países como Estados Unidos donde se produce la mayor parte del maíz mundial (CIMMYT, 2001).

La mayoría de zonas tropicales y subtropicales del mundo están afectadas por los suelos ácidos, ya que estos suelos presentan diferentes componentes que disminuyen el crecimiento vegetativo y reducen el potencial de rendimiento de los cultivos, puesto que presentan bajas concentraciones de nutrientes y agua y presentan altas

concentraciones de aluminio, manganeso, hierro e hidrógeno que causan problemas de toxicidad para las plantas. Así mismo, el efecto tóxico del aluminio se incrementa con factores tales como sequía y deficiencias de nutrientes tales como fósforo y calcio (Foy *et al.*, 1994) puesto que se forman compuestos tóxicos entre el aluminio y éstos nutrientes generando su consecuente fijación al suelo y de esta forma no se encuentran disponibles para ser absorbidos por la planta (Gaume *et al.*, 2001).

La acidez de los suelos agrícolas tiene un impacto mundial y cerca del 26% (37.77 millones de Km²) de tierras están limitadas para la producción de cultivos siendo el problema dominante la toxicidad por aluminio puesto que influye negativamente en la producción del 67% de los cultivos (CIMMYT, 1997). En Sur América cerca de 12 millones de km² (66% de la región) presentan suelos ácidos (Eswaran *et al.*, 1997). Los agricultores de estas zonas han contrarrestado la acidez de los suelos aplicando cal, la cual disminuye en cierta forma la toxicidad por elementos como el Al y el Mn debido a que la cal retiene estos elementos formando compuestos para que no sean absorbidos por las raíces así como para que no sean fijados nutrientes como el calcio, magnesio, fósforo, etc.

Según Baligar y Fageria (1997) y Bhadoria *et al.*, (2001) la deficiencia de fósforo en suelos ácidos ha sido el factor más limitante en la producción de cultivos tales como el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), maíz (*Zea mays* L.) y soya (*Glycine max* L.) porque limita el crecimiento de los cultivos reduciendo el desarrollo del tallo y del sistema radical; reduciendo además la tasa fotosintética, produciendo tallos delgados y muerte de hojas (Taiz, 1998). El reflejo de la disminución de la productividad debido a la deficiencia o estrés por fósforo se observa más en la reducción del número total de semillas que en el tamaño de éstas, en cereales como el maíz porque reduce el número de óvulos fértiles lo cual repercute en el número total de granos por mazorca dando como resultado una baja producción de los cultivos (Grant *et al.*, 2001).

Estudios previos han determinado que existen dos posibilidades por las cuales un genotipo puede ser eficiente en la toma de fósforo en condiciones de suelos ácidos. La primera se debe a la infección por hongos micorrízicos arbusculares (HMA) (Alves *et al.*, 2001) y una segunda causa es que el genotipo posea en su genoma regiones que codifiquen para la característica de eficiencia en la adquisición de este elemento. La habilidad para interactuar con (HMA) fue demostrada por Kaeppler *et al.*, (2000), este autor identificó una región del genoma que controla la asociación HMA-maíz, y tres regiones del genoma que controlan el desarrollo de la planta a niveles bajos de fósforo en ausencia de micorrizas.

Una aproximación al estudio de una variable de interés agronómico, tal como la eficiencia en la toma de fósforo, se podría realizar desde un punto de vista fenotípico (mejoramiento tradicional) y genotípico (por medio de la detección de loci de caracteres cuantitativos). La identificación de regiones del genoma relacionadas con la eficiencia en la toma de fósforo permitirá la obtención de materiales comerciales que presenten en su genoma dicha región que resulta de interés agronómico.

El continuo incremento en la productividad de los cultivos ha sido el resultado de la selección artificial de las expresiones fenotípicas de las especies de interés. El mejoramiento tradicional ha estado basado en seleccionar genotipos, a nivel visual y por medios cuantitativos, que respondan mejor a características tales como resistencia a enfermedades e insecticidas, mayor producción y tolerancia a diferentes condiciones ambientales, entre otras. Nuevas técnicas como los marcadores de ADN han surgido en las últimas décadas como una herramienta que complementa el mejoramiento convencional haciendo más eficiente la selección de genotipos. Con base en una característica de interés se escogen los materiales más aptos de un cultivo en menor tiempo y de una forma más eficiente por medio de caracterizaciones moleculares donde también es posible fijar rasgos de interés en los materiales que se desee a través de la selección asistida por medio de los marcadores de ADN. (Stuber *et al.*, 1999).

La información para determinado rasgo morfoagronómico por medio de los marcadores de ADN por si sola no es muy útil puesto que es necesario visualizar en campo el comportamiento de la característica de interés ya que es en este escenario donde los cultivos se desarrollan, de esta forma el mejoramiento asistido por marcadores moleculares (MAS) se complementa con el mejoramiento tradicional. El manejo de los cultivos necesitará desarrollar y aplicar nuevas tecnologías moleculares como un rápido paso para mejorar más eficientemente los potenciales de producción de las plantas de un cultivo para el abastecimiento de la población humana, así como para satisfacer los cambios en las preferencias de consumo de un producto agrícola (Stuber *et al.*, 1999).

El mejoramiento asistido por marcadores moleculares MAS incluye detectar diferentes regiones del genoma que se asocian a una característica de naturaleza cuantitativa, las cuales se denominan *Quantitative trait loci* (QTL). El objetivo del presente trabajo fué identificar QTLs relacionados con la eficiencia en la toma de fósforo en una población segregante F_{2,3} de maíz resultante del cruzamiento entre dos líneas homocigotas, y contrastantes para la característica de tolerancia a suelos ácidos.

La presente investigación fué parte del proyecto de “Desarrollo de genotipos tolerantes a estreses abióticos: sequía, bajo nitrógeno y precosidad para la costa atlántica y suelos ácidos (toxicidad por aluminio y bajo fósforo) para la altillanura colombiana” financiado por el Ministerio de Agricultura de Colombia y fue el primer trabajo en el país desarrollado en el ámbito de mejoramiento genético asistido por marcadores moleculares (MAS) que aborda, dentro del marco de estreses abióticos, el área de deficiencia de fósforo, uno de los principales factores limitantes de los suelos ácidos para la producción de los cultivos.

En la Altillanura Colombiana existen cerca de 7 millones de hectáreas para ser aprovechadas en la agricultura. El maíz surge como una alternativa de cultivo transitorio que podría hacer estas tierras más aprovechables y generar para los cultivadores fuentes de ingresos.

La limitante más grande para implementar ampliamente el cultivo de maíz en estas zonas es la acidez de los suelos, dado que los Llanos Orientales presentan suelos donde el pH oscila entre 4.9-5.1, y concentraciones altas entre 58.3% y 68.49% de saturación por aluminio, así como bajos niveles de fósforo que varían entre 1 y 5 partes por millón (ppm) (Bernal, 2002 *Comunicación personal*) y otros nutrientes tales como nitrógeno, calcio, magnesio, molibdeno y Zinc (Baligar & Fageria, 1997).

Desde el punto de vista del mejoramiento asistido por marcadores moleculares MAS, uno de los métodos para abordar la totalidad de factores químicos que limitan la producción de los cultivos, implica detectar regiones del genoma o QTLs que se encuentren relacionados con la tolerancia a la toxicidad por aluminio para ser analizados con los QTLs ya identificados para eficiencia en la toma de fósforo (Ortiz, 2002) y tolerancia a suelos ácidos (Navas, 2000), con ello se busca relacionar los principales componentes que limitan el rendimiento de los cultivos de maíz en las condiciones edáficas de los suelos de la Altillanura Colombiana.

Por medio del mejoramiento asistido por marcadores moleculares MAS, es posible desarrollar para los cultivadores de maíz de la región de la Altillanura Colombiana nuevos materiales mejorados introgresando los QTLs identificados para tolerancia a suelos ácidos y eficiencia en la toma de fósforo a genotipos de maíz élite.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Origen y Generalidades del maíz

Existen tres teorías acerca del origen del maíz, la primera de ellas habla de su origen asiático, esta teoría se apoya en el hecho de que existe una gran variedad de formas nativas de maíz encontradas en Perú, Ecuador y Bolivia donde las poblaciones de ésta área geográfica habrían llegado a América a través del Océano Pacífico (Ospina, 1999). La segunda se basa en la evidencia de haber encontrado los maíces más antiguos en las cuevas del Valle de Tehuacán, cerca de la capital mexicana, a 2.500 metros de altura sobre el nivel del mar. En esas cuevas se hallaron mazorcas (de 5 a 6 cm de largo y 6 mm de ancho) de esos maíces ancestrales que ya eran usados como alimento por culturas que habitaban la región hace más de 5.000 años a.C., estableciendo la posibilidad de que esta planta fuera original de América Central., siendo esta hipótesis la más plausible (De León 2002., Ospina 1999). La tercera teoría indica que el origen podría hallarse en Sudamérica, basado fundamentalmente e la existencia de gran diversidad de maíces en los altiplanos del Perú (Llanos Company, 1984).

El maíz pertenece a la clase Angiospermae, subclase monocotiledoneas, tribu maideas, familia gramíneas, género *Zea* y especie *Zea mays*. Esta especie no tiene capacidad para reproducirse en condiciones naturales por si misma, debido a que las semillas están sobre el surco de la mazorca por lo cual no se dispersan con facilidad (Fenalce, 2002).

La tribu maidea incluye ocho géneros. Cinco de origen asiático (*Coix*, *Schlerachne*, *Polytoca*, *Chinonachne* y *Trilobachne*) y tres americanos (*Zea*, *Tripsacum* y *Euchlaena* o *Teosintle*). Los dos últimos géneros tienen gran importancia dada la relación filogenética con el género *Zea*, cuyo interés como especie agrícola es muy grande en todo el mundo (Llanos Company, 1984).

Del género *Zea* existen dos especies, *Zea mays* (maíz) y *Zea diploperennis*, el *Teosintle* y el *Tripsacum* son especies silvestres que pueden cruzarse con el maíz, el primero lo hace en condiciones ambientales, mientras que el segundo lo hace en condiciones experimentales. Parte del vigor híbrido natural del maíz se lo debe a la hibridación con el *Teosintle*, es por ello esta especie es considerada ancestro del maíz actual (Ospina, 1999).

El ancestro silvestre del maíz domesticado actual fue el maíz tunicado –reventón, actualmente desaparecido; el *Teosintle* es el resultado de la hibridación entre el maíz y el *Tripsacum* (Llanos Company, 1984).

El maíz, cuyas células poseen 10 cromosomas, es una planta anual con un gran desarrollo vegetativo, que puede alcanzar hasta 5 m de altura (el promedio es 2-2.50 m), su tallo es nudoso y macizo y lleva de 15 a 30 hojas alargadas abrazadoras (4 a 10 cm de ancho y 35 a 50 cm de largo). El maíz posee un sistema radicular fasciculado bastante extenso formado por tres tipos de raíces:

- Las raíces primarias emitidas por la semilla que incluyen la radícula y las raíces seminales.
- Las raíces principales o secundarias que comienzan a formarse a partir de la corona, por encima de las raíces primarias y que constituyen casi la totalidad del sistema radicular.

- Las raíces aéreas o adventicias que nacen en último lugar en los nudos de la base del tallo por encima de la corona (Ospina, 1999).

El maíz es una planta monoica, es decir, que una planta posee tanto flores femeninas como masculinas. Las flores masculinas se encuentran como una inflorescencia en una panícula al final de la planta, y las flores femeninas se reúnen en varias panojas o mazorcas y se ubican en las axilas de las hojas (Ospina, 1999).

Cuando se fecunda un óvulo de la flor femenina, da lugar a una estructura en forma de grano, de contextura mas o menos dura, de color amarillo, o blanco con diferentes pigmentos en la “aleurona”. Dado que la flor femenina al igual que la masculina es una inflorescencia cada estilo o estigma que sobresale de las brácteas producirá un grano, por ello el llenado de la mazorca depende de cuanto polen ha caído en la panícula y si ha logrado entrar en los estilos (Ospina, 1999).

Para Colombia se determinó que la planta de maíz, dependiendo de la variedad, germina en clima caliente a los cuatro días después de la siembra, la acumulación de materia seca se inicia a los 18 días después de sembrado y el desarrollo finaliza a los 88 días, con un peso promedio de 591 g de materia seca por planta (Fenalce, 2002).

La floración femenina en Colombia, para las diferentes variedades se presenta aproximadamente a los 53 días en clima caliente y 130 días en clima frío; el llenado de los granos se inicia a los 64 y 134 días respectivamente, lo que da un periodo de reposo o de preparación para traslocar nutrientes al grano de 11 días en clima caliente y 4 días para clima frío. La maduración fisiológica del grano o máxima acumulación de la materia seca se obtiene a los 88 días para clima caliente y 139 para clima frío. El periodo de llenado de los granos es de 35 y 109 días en los climas caliente a frío respectivamente (Fenalce, 2002).

2.2 Aplicaciones del maíz

Existe una lista muy extensa de subproductos derivados del maíz, todos ellos procedentes de los diferentes tipos de grano existente y de los métodos de procesamiento del grano que bien pueden ser tratamientos secos o húmedos. De los tratamientos secos se obtienen harinas gruesas y finas. Las primeras se usan para la producción de concentrados animales y para fermentación en la elaboración de cerveza y otras bebidas. De las harinas de partículas finas se derivan productos como cereales para el desayuno, mezclas como harina de trigo para panadería y pasabocas. En artículos no comestibles el maíz es utilizado en la fabricación de agregados similares a pegantes industriales, selladores de construcción, cartones, papel corrugado y barrenos para pozos petrolíferos (De León, 2002). Del procesamiento húmedo del grano se obtienen cinco productos básicos que son almidón empleado en grandes cantidades en las industrias de papel y textiles, dextrosa un derivado del almidón, se producen gomas y adhesivos, se extrae alcohol, medicamentos y combustibles, jarabe dulce, jarabe de alta fructosa y aceite (De León, 2002).

2.3 Suelos ácidos en relación con la deficiencia de fósforo

Los suelos ácidos tropicales se caracterizan por presentar altos contenidos tóxicos de aluminio y bajo contenido disponible de nutrientes tales como Mg, Ca, K, N, P y S. La baja disponibilidad de nutrientes se debe a que el aluminio se une a éstos formando compuestos que posteriormente son precipitados (Baligar & Fageria, 1997).

La nutrición de fósforo y fitotoxicidad por el aluminio pueden ser dos fenómenos que bien pueden estar o no relacionados, pero recientes investigaciones han demostrado que la aplicación de fertilizantes de fósforo al suelo aumenta la habilidad de las raíces de las plantas para penetrar los subsuelos ácidos donde por el contrario, las altas concentraciones de aluminio en estas capas subterráneas limitan la extensión

radicular (de Miranda & Rowell, 1987). Así mismo, se ha demostrado que la aplicación de grandes cantidades de fertilizantes de fósforo a los suelos puede disminuir la toxicidad por aluminio, debido a la precipitación directa de los compuestos aluminio-fosfatos (Gaume *et al.*, 2001).

Para contrarrestar en cierta forma la acidez del suelo los agricultores aplican cal, la cual tiene efectos positivos tales como reducir de toxicidad de Al y Mn, mejorar la disponibilidad de P, Ca y Mg, incrementar la capacidad de intercambio catiónico (CIC), promover la fijación de N₂ y estimular la nitrificación. De esta forma se mejora la estructura del suelo y se incrementa el número de cultivos que pueden crecer en suelos ácidos (Baligar & Faderia, 1997).

Existen también limitantes para la aplicación de cal, puesto que es un elemento que presenta una baja solubilidad lo cual requiere aplicar grandes cantidades para inhibir los efectos tóxicos de Al y Mn y de esta forma conseguir que nutrientes como el Ca, Mg y P estén disponibles para ser asimilados por las plantas (Baligar & Faderia, 1997).

La necesidad de aplicar grandes cantidades de cal resulta ser una solución costosa por lo cual la aplicación de este elemento no resulta logísticamente posible o económicamente accesible para muchos cultivadores de Colombia y otros países en desarrollo. En esta área el cultivo de especies tolerantes a la acidez podría ser una alternativa más viable y sostenible (Eswaran *et al.*, 1997).

Los suelos de la Altillanura Colombiana se caracterizan por ser ácidos, con valores de pH de 4.8 en promedio, así mismo presentan altas concentraciones de aluminio que varían entre un 60% a 70% (De León *et al.*, 2001). Estas concentraciones de aluminio generan toxicidad para la planta, así como formación de compuestos con nutrientes tales como el fósforo que hacen que éste no se encuentre disponible en la solución del suelo para que sea absorbido por las plantas.

Adicionalmente este tipo de suelos presentan grandes limitaciones tales como escasez de materia orgánica, baja capacidad de infiltración, no permiten ser penetrados fácilmente por las raíces, bajo contenido de nutrientes, etc. Estas limitaciones físicas, químicas y biológicas impiden llegar a una producción agrícola sostenible. Para contrarrestar las características no deseables de los suelos de la Altillanura Colombiana, es necesario mejorarlos aplicando prácticas de manejo adecuadas a través del tiempo para generar una capa de suelo productiva, conservacionista y sostenible denominada “capa arable”. Los medios necesarios para lograrlo son la labranza vertical (cincales) y aplicación de cal, mantenimiento de coberturas, así como, siembra de material vegetal (pastos y cultivos) genéticamente adaptado a las condiciones ácidas y de baja fertilidad de estos suelos, entre otras prácticas que se encuentran en desarrollo (Bernal, 2002 *Comunicación personal*).

La siembra del maíz puede llegar a ser ampliamente implementada como un cultivo rotatorio alternativo que enriquezca la materia orgánica de los suelos de la Altillanura Colombiana, de esta forma se estaría aplicando una de las prácticas de manejo para la construcción de la “capa arable” en los suelos de esta región. Para implementar ampliamente la siembra del maíz en la Altillanura es necesario obtener genotipos adaptados a las condiciones edáficas de los suelos de esta región.

2.4 Impacto del estrés por fósforo

Después del nitrógeno, el fósforo es el segundo macronutriente más limitante para el crecimiento de las plantas y hace parte del 0.2% del peso seco de éstas, es un componente de moléculas claves tales como ácidos nucleicos, fosfolípidos, y ATP. El fósforo está también involucrado en el control de reacciones enzimáticas claves y en la regulación de rutas metabólicas, cuando no se realiza un suministro adecuado de este nutriente, las plantas no pueden crecer normalmente, razón por la cual es llamado el elemento de la reproducción (Schachtman *et al.*, 1998).

Los síntomas característicos de deficiencia de fósforo, en cultivos como el maíz, son: bajo crecimiento vegetativo, coloración verde-oscura de las hojas, las cuales pueden estar deformadas y contener pequeñas manchas necróticas, otros efectos negativos en el desarrollo foliar del maíz son el retraso en la aparición de hojas así como reducción de la longitud y ancho total de las mismas (Pellerin & Mollier, 2001). En algunas especies, la deficiencia de fósforo puede producir exceso de antocianinas, dando a las hojas una coloración púrpura (Taiz, 1998).

Un gran número de estudios, en diferentes cultivos, ha demostrado que el suplemento de fósforo en la parte inicial de la vida de las plantas es crítico para el adecuado rendimiento de los cultivos debido a que se restringe el crecimiento de las plantas, condición de la cual éstas no se recuperan limitando seriamente la producción, por lo tanto la baja disponibilidad de este elemento implica pérdidas económicas para los agricultores (Grant *et al.*, 2001).

2.4.1 Mecanismos de toma y transporte de fósforo en las plantas

Aunque la cantidad total de fósforo en el suelo puede ser alta, ésta frecuentemente se presenta en formas no disponibles para las plantas, así el fósforo orgánico comprende entre el 20-80 % de la cantidad total, pero esta forma no es la asimilable por las plantas. El fósforo es incorporado a las células de las plantas por medio de difusión (Baligar & Faderia, 1997) en la forma de ortofosfato (Pi) (Bucher *et al.*, 2001) que se encuentra en una proporción menor a 10 micromolar en la solución del suelo. Los microorganismos del suelo liberan las formas inmóviles de fósforo a la solución del suelo, por ello la fauna del suelo incluidos los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) facilitan para las plantas la toma de fósforo. En ciertas especies de plantas el desarrollo de raíces proteoides son formadas en respuesta a limitaciones de fósforo (Schachtman *et al.*, 1998).

Una gran fracción del fósforo aplicado a los suelos ácidos es fijada por óxidos hidratados amorfos de hierro y aluminio (Baligar & Fageria, 1997). La eficiencia del P como nutriente, incluye la capacidad superior de adquirir fósforo del medio por parte de la planta, así como el uso eficiente del mismo, es decir, la capacidad superior de convertir el fósforo en biomasa o producción (Alves *et al.*, 2002).

Los genotipos eficientes en la toma de fósforo están relacionados con: la alta utilización del fósforo contenido en la semilla; presentar alto contenido de materia seca en la raíz que se encuentra asociado directamente con la longitud para explorar un gran volumen de suelo (Kaeppler *et al.*, 2000, Pellerin & Mollier, 2001, Alves *et al.*, 2001); exudar significativas cantidades de ácido málico y cítrico por parte del sistema radicular (Gaume *et al.*, 2000) debido a que los átomos positivos (cationes) de los ácidos orgánicos son requeridos para contrarrestar el incremento de los átomos negativos (aniones) de los grupos OH⁻.

Otra de las características importantes de los genotipos eficientes en la toma de fósforo es una alta actividad de la fosfatasa ácida la cual promueve la adquisición de fósforo a partir de fósforo orgánico (Gaume *et al.*, 2000, Flores *et al.*, 2001) y por último por asociaciones micorrízicas (Kaeppler *et al.*, 2000, Flores *et al.*, 2001).

Dentro de los mecanismos anteriormente mencionados por parte de las plantas, Alves *et al.*, (2002) concluyeron, que para el maíz la arquitectura y el crecimiento diferencial del sistema radicular es uno de los mecanismos que realmente pueden explicar la eficiencia para la toma de fósforo en ambientes de estrés, debido a que el alto crecimiento de raíces ha sido identificado como un mecanismo de tolerancia a la deficiencia de fósforo.

Estudios para conocer si las características vegetativas pueden ser un indicativo de genotipos superiores o altamente productivos para ambientes de estrés por fósforo han sido realizados con el objetivo de llevar a cabo una selección rápida de los

materiales deseados (Xiaolong *et al.*, 1995). Variables como el volumen de raíz pueden dar un indicativo de cómo se encuentra la distribución del sistema radical de un determinado genotipo, así mismo, el área foliar y la altura de la planta son características que también pueden ser correlacionadas entre si y de esta forma comprender el mecanismo de absorción y translocación de fósforo, debido a que dependiendo del área foliar la tasa fotosintética va a ser mayor o menor reflejándose en características vegetativas como la altura de la planta. Así mismo, el rasgo de altura de la planta está directamente relacionado con el rendimiento de grano en suelos que presentan toxicidad por aluminio (Navas, 2002 *Comunicación personal*).

El aumento en la velocidad máxima de absorción de fósforo (V_{max}) dentro de la tasa de flujo de P, bajo condiciones de estrés de este elemento, es un mecanismo general de respuesta de las plantas y no confiere eficiencia en la adquisición de P entre genotipos de maíz (Alves *et al.*, 2002).

Entre los mecanismos de tolerancia a estrés en suelos ácidos, las especies presentan diferencias genotípicas de demanda interna del nutriente o aumento de la eficiencia de circulación o translocación de dicho nutriente. El mecanismo de evasión al estrés por deficiencia de fósforo empleado por las plantas, consiste en un alargamiento de raíces, lo que aumenta el área de absorción radical, propiedad más desarrollada en unos genotipos que en otros (Marschner, 1995).

Dentro de un marco genético también se encuentran los transportadores de fosfato y sulfato, por medio de los cuales se movilizan estos elementos a través de la planta. Los primeros reportes de genes que codifican para transportadores de fosfato en plantas fueron hechos por Muchhal *et al.*, (1996) y Smith *et al.*, (1997), los genes reportados por estos autores fueron aislados de *Arabidopsis* y corresponden a la familia de transportadores de fosfato *Ph1*. Un miembro de una familia diferente de transportadores de fosfato en plantas el *Ph2* ha sido recientemente aislado de *Arabidopsis* (Daram *et al.*, 1999).

La expresión de genes que codifican para transportadores involucrados con el sulfato y fosfato en las raíces es transcripcionalmente regulado por señales que responden a la condición de nutrientes de las plantas. Así, cuando el suministro externo de fosfato llega a ser limitante hay un incremento en los transcritos mRNA en las raíces, que corresponde a una alta afinidad de los transportadores de fosfato (Liu *et al.*, 1998, Muchhal & Raghothama 1999, Smith *et al.*, 1997). Esto incrementa constantemente los niveles de mRNA que están acompañados de un incremento en las capacidades de la raíz para tomar fosfato o sulfato (Smith, 2001).

2.5 Marcadores moleculares microsatélites SSR

La tecnología de marcadores moleculares ha mostrado ser una herramienta útil y efectiva para identificar y mapear características cuantitativas o QTLs en numerosos cultivos de plantas (Stuber *et al.*, 1999).

Inicialmente las técnicas de marcaje de ADN para estudios en los que se pretendía resolver problemas evolutivos o de clasificación al nivel de especie o poblaciones, estuvieron fundamentadas en los RFLPs (restriction fragment length polymorphism) los cuales fueron usados como marcadores. Este tipo de marcadores fueron seguidos por la nueva generación de marcadores basados en PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) tales como RAPDs, SSR o microsatélites y AFLPs los cuales son más económicos, fáciles de emplear y necesitan pequeñas cantidades de ADN (Westman & Kresovich, 1997).

Los microsatélites o Secuencias Simples Repetidas (de las siglas en inglés SSR) son regiones genómicas que comprenden repeticiones altamente variables en grupos de dos a seis nucleótidos de ADN. Los fragmentos polimórficos de los microsatélites, amplificados por medio de la técnica de PCR, pueden ser detectados fácilmente por simples procesos experimentales. La aplicación de los marcadores de ADN

microsatélites es ideal en estudios que requieren métodos de muestreo no destructivos o extracción de ADN de semillas o granos de polen. También los SSR son de gran utilidad cuando se requiere el análisis de un gran número de muestras que estén involucradas con características cuantitativas, medición de dinámica de poblaciones o protección de germoplasma. Lo anterior debido a que la técnica de PCR requiere solo cantidades mínimas de DNA y amplifica pequeñas regiones (frecuentemente 100-300 pb) del genoma (Senior *et al.*, 1996).

Un gran avance en la caracterización del genoma del maíz es la identificación de marcadores ligados a QTLs. Actualmente, 1855 pares de *primers* en 1797 diferentes *loci* relacionados con diferentes características han sido probados en el germoplasma del maíz (DB maize, 2002).

La selección de genotipos relacionados con alguna característica morfoagronómica de interés económico tal como la tolerancia a bajos niveles de fósforo en el suelo, es más eficiente por medio de la aplicación de marcadores moleculares, que por medio de la caracterización fenotípica o morfológica (Reiter *et al.*, 1991). Debido a que por medio de la selección genotípica se escogen los materiales deseados teniendo en cuenta solo el genotipo, evitando de esta forma la varianza del ambiente y la varianza de la interacción genotipo por ambiente. Por lo tanto, la selección genotípica implica escoger un determinado material sin tener en cuenta los efectos ambientales que podían afectar o enmascarar la característica de interés.

2.6 Mapas de ligamiento y detección de QTL

2.6.1 Mapas de ligamiento

Los mapas de ligamiento son modelos abstractos lineales del orden de los genes o marcadores de ADN de una determinada especie. Estos modelos que permiten

comprender la forma como está organizado el genoma, son utilizados en determinar la identidad genética, detectar genes o marcadores relacionados con resistencia a plagas y enfermedades.

A través de los mapas de ligamiento, es posible estudiar la arquitectura de características de carácter cuantitativo o QTLs, identificando, mapeando y midiendo la magnitud del efecto de los principales factores génicos involucrados en el control de estas características. El estudio de estos factores génicos es posible a través de los marcadores moleculares por medio de los cuales se generan los mapas de ligamiento, ya que es posible aproximarse con mayor precisión a las regiones genómicas que están relacionadas con dichos factores de interés. Los mapas de ligamiento permiten además, manipular estos factores individualmente durante los procedimientos de selección y recombinación genética (Gómez, 2000).

Alfred H. Sturtevant, fue el primero en generar un mapa de ligamiento basado en una propuesta mediante la cual se podía mapear secuencias y medir la distancia entre genes ligados, de esta forma sugirió que las frecuencias de recombinación o *Crossing Over* entre genes ligados son aditivas y que la frecuencia de intercambio podía ser tomada como un estimativo de distancia entre dos genes o loci a lo largo del cromosoma. Con estas bases, Sturtevant construyó un mapa de los tres genes que se encuentran en el cromosoma X de *Drosophila*, este mapa fue realizado con una unidad de mapeo basada en la probabilidad (%) de recombinación entre dos genes, denominada centimorgan (cM), en honor al trabajo de Morgan, quien también trabajó con mutaciones de *Drosophila*, donde 1 cM equivale al 1% de recombinación. Hoy en día se sabe que los mapas más exactos son derivados de experimentos con genes que están relativamente cercanos, es decir, que tienen la probabilidad más baja de presentar recombinación (Klug & Cummings, 1999).

Los trabajos de Morgan y Sturtevant constituyeron la base para iniciar trabajos de construcción de mapas genéticos, donde se busca la localización física de genes de

interés o secuencias cercanas a éstos, tales como los diferentes marcadores moleculares de ADN. Con los marcadores moleculares tales como microsatélites y otros basados en la técnica de reacción en cadena de la polimerasa PCR, es posible realizar los mapas de ligamiento de diferentes especies de plantas en tan solo unos pocos meses dependiendo de la longitud total del mapa (Quarrie *et al.*, 1999).

Las progenies F_2 , dobles haploides y líneas recombinantes altamente homocigotas (RILs), son las más comunes para generar mapas de ligamiento. Las progenies F_2 originadas a partir de una cruce entre parentales que difieren en la expresión de una característica en particular, permite identificar el número y la localización de genes que tienen grandes efectos en la regulación de la característica (Quarrie *et al.*, 1999).

Con base en los estudios de Openshaw *et al.*, (1994), Visscher *et al.*, (1996) y Frisch *et al.*, (1998) para generar un mapa de ligamiento es necesario contar con una densidad de marcadores que permita que la distancia entre cada marcador sea en promedio de 20 cM. De esta forma se garantiza un buen cubrimiento del genoma en programas de selección asistida por marcadores moleculares (Frisch *et al.*, 1999). En poblaciones F_2 se obtiene la máxima segregación de loci de acuerdo con la genética mendeliana, Por lo tanto, en esta población se va a obtener la máxima segregación para cada marcador. Si se están empleando marcadores dominantes la segregación será 3:1. Cuando se emplean marcadores codominantes la segregación será 1:2:1 (CIMMYT, 1996).

Una vez se hallan pasado todos los marcadores en la población de estudio se debe realizar una prueba para determinar si los marcadores presentan la segregación esperada, para ello se compara la segregación observada con la esperada. La prueba estadística generalmente usada para esto es la prueba de Chi-Cuadrado (CIMMYT, 1996).

En la construcción de mapas de ligamiento molecular se estima el máximo *likelihood* o máxima posibilidad de que dos marcadores estén ligados, y se basa en el orden de los marcadores que produce la distancia mas corta y que a su vez se tenga la probabilidad más baja de que se realicen múltiples recombinaciones (Young, 1994).

En los mapas de ligamiento, también es estimado el valor de LOD. Este valor explica el logaritmo (10) de la razón entre dos hipótesis, una hipótesis nula que plantea: que si hay ligamiento entre dos marcadores contra una hipótesis alterna que plantea: que no hay ligamiento entre dos marcadores (Young, 1994). Lo anterior equivale a decir que para una probabilidad de recombinación observada θ de 5 con $LOD = 3$ la recombinación será 1.000 veces más probable, por lo tanto se tendrá una probabilidad de recombinación del 50% lo que indica que los marcadores no se heredarán juntos (Navas, 2000).

Numéricamente el LOD de dos radios L_0 y L_1 de un par de hipótesis H_0 y H_1 será definido como

$$LOD = - \log L_0/L_1$$

El cálculo final de la distancia entre todos los marcadores se realiza mediante funciones de mapeo las cuales son relaciones matemáticas entre probabilidades de recombinación y distancias de mapa expresadas en términos de centimorgans o Morgans, tales funciones son usadas para corregir y hallar la verdadera distancia entre todos los marcadores. Existen cerca de 8 funciones de mapeo, en este documento se hará referencia a dos de ellas, Haldane y Kosambi. La primera de ellas considera entre marcadores un solo evento de recombinación y la segunda considera dobles eventos de recombinación entre marcadores (Basten *et al.*, 2002).

La función de Haldane está definida por las siguientes funciones:

$$d_M = .1/2 \ln (1-2r)$$

$$r = 1/2[1 - \exp(-2d_M)]$$

La función de Kosambi está definida por las siguientes funciones:

$$r = 1 - \exp(-4d_M)/2[1 + \exp(-4d)]$$
$$d_M = 1/4 \ln\{1 + 2r/1 - 2r\}$$

Donde:

r : es la frecuencia de recombinación entre pares de marcadores
 d_M es la distancia entre marcadores medida en Morgans.

2.6.2 Detección de QTL

El análisis de QTL está usualmente asociado con una población de plantas para mapeo, que se divide en dos partes: 1) Probar en la población todos los marcadores seleccionados previamente como polimórficos en los parentales para cubrir una buena parte del genoma, generando de esta forma un mapa de ligamiento de los marcadores con base en la probabilidad de que dos marcadores se hereden juntos y 2) Caracterizar fenotípicamente la población para el rasgo de interés.

La gran mayoría de las características heredables de importancia económica, resultan de una acción conjunta de varios genes. Estas características se denominan poligénicas, cuantitativas o de herencia compleja. El fenotipo resultante presenta una variación continua en lugar de clases fenotípicas discretas. Características tales como productividad, crecimiento volumétrico y precocidad, son controladas por varios genes en distintos loci, es decir, sitio o lugar en un cromosoma donde un gen en particular está localizado (Klug & Cummings, 1999).

Los loci que controlan características cuantitativas se denominan QTL, es decir, *loci* controladores de características cuantitativas. Los QTLs son segmentos de cromosomas encontrados a través del genoma que contienen uno o muchos genes, los cuales conducen a la expresión de alguna característica cuantitativa (Forbes, 2000).

La herencia de características cuantitativas fue bien debatida hacia inicios de 1900, William Bateson y Gudny Yule, apoyaron la explicación Mendeliana de herencia y propusieron la teoría llamada factor-múltiple o hipótesis del gen-múltiple donde sugieren que un cierto número de factores o genes contribuyen para las características observadas o fenotipo de una forma acumulativa o cuantitativa (Klug & Cummings, 1999). Esta teoría junto con la premisa de que las características cuantitativas se heredan en la forma Mendeliana así como, otros factores de heredabilidad, varianza fenotípica y varianza genotípica que serán considerados mas adelante, son las bases para el estudio de la genética cuantitativa

Cuando se trata de analizar el efecto de dos características cuantitativas de alguna forma relacionadas, encontrar QTLs que estén influenciando dichas características no provee evidencia concluyente de que las dos características estén controladas por las mismas regiones del genoma, pero se aproxima a la idea de que tengan algún factor en común (Thumma *et al.*, 2001).

Uno de los métodos para localizar y comparar loci que regulan características cuantitativas o QTLs, requiere el cruzamiento de dos líneas homocigotas contrastantes para una característica en particular, a esta generación “F₁” se le realiza una autofecundación para obtener una población en la máxima segregación de plantas “F₂”. En la población “F₂”, cada individuo es caracterizado mediante marcadores moleculares. Los análisis de QTL no solo proporcionan información del número total de loci involucrados con determinada característica de interés, sino que también indica la posible localización de estos loci (Thumma *et al.*, 2001).

Cuando un QTL es detectado el valor de r^2 indica la proporción de la varianza explicada por ese QTL (Basten *et al.*, 2002).

El valor de LOD en un mapa de ligamiento tiene relación con el valor de LR calculado en el mapeo de QTLs y equivale a dos veces el logaritmo en base 10 de la máxima posibilidad de validar una hipótesis nula de que no hay un QTL ligado a un marcador contra la hipótesis alterna de que si hay un QTL ligado a un marcador en una región en particular del genoma. Esta relación está definida mediante la fórmula matemática:

$$LR = -2 \ln L_0/L_1 = -2 \ln 10^{-LOD}$$

Para analizar la segregación de un marcador no es posible separar la frecuencia de recombinación r y los efectos de aditividad (a) y dominancia (d) de los QTL. El efecto de aditividad es el efecto de cambiar el loci de un parental por el del otro parental. El signo + indica el incremento numérico de la característica que es aportado por el alelo del parental 1, y el signo – es el decremento numérico del loci del parental 2. Dependiendo de la característica en cuestión se determina cual línea se seleccionará. El efecto de dominancia ocurre cuando para un loci el valor promedio de los heterocigotos de la población es menor que el de alguno de los parentales.

El método estadístico para mapear loci de características cuantitativas (QTL), llamado mapeo de intervalo compuesto (CIM) (Zeng, 1993; Zeng, 1994) Emplea un Modelo mediante el cual es posible involucrar dos o más variables independientes.

El modelo estadístico es definido como:

$$\mathbf{Y} = \mathbf{x}^* \mathbf{b}^* + \mathbf{z}^* \mathbf{d}^* + \mathbf{XB} + \mathbf{E}$$

Donde

Y: es un vector de valores de una característica.

b* y **d*:** son los efectos de aditividad y dominancia del QTL putativo que está siendo probado.

x* y **z*:** son indicadores de vectores variables especificando las probabilidades de que un QTL putativo esté siendo construido por flanqueamiento de marcadores en diferentes genotipos.

B: es el vector de efectos de otros marcadores seleccionados ajustados en el modelo.

X: es la información de la matriz de estos marcadores seleccionados.

E: es el error del vector.

La estimación de los parámetros es obtenida por medio de la máxima posibilidad de obtener dos marcadores ligados a través del algoritmo ECM (Expectativa/Maximización Condicional) (Meng & Rubin, 1993). Cada paso de E (expectativa) es la probabilidad de que un QTL putativo individual en diferentes genotipos esté siendo detectado. En el paso de CM (Maximización condicional) la estimación de parámetros **b*** y **d*** es separado de **B** y cada grupo es estimado convencional en los otros. Este procedimiento es implementado para consideraciones numéricas. Así **x*** y **z*** son separados de **X**, donde **X** es inalterado en cada interacción.

Para una población F_2 (o alguna población en el cual los efectos de dominancia puedan ser determinados) los parámetros de aditividad (a) y dominancia (d), son estimados, considerando cuatro hipótesis:

La primera plantea que no hay efecto de aditividad y tampoco hay efecto de dominancia, es decir, el efecto de aditividad es igual a cero y el efecto de dominancia es igual a cero:

$$H_0: a = 0, d = 0$$

La segunda plantea que si hay efecto de aditividad pero no hay efecto de dominancia, por lo tanto el efecto de aditividad es diferente de cero y el efecto de dominancia es igual a cero:

$$H_1: a \neq 0, d = 0$$

La tercera hipótesis plantea que no hay efecto de aditividad, pero si hay efecto de dominancia, por lo tanto el efecto de aditividad es igual a cero y el efecto de dominancia es diferente de cero:

$$H_2: a = 0, d \neq 0$$

La cuarta hipótesis hace referencia a que si hay efecto de aditividad y de dominancia, por lo tanto, el efecto de aditividad y el de dominancia son diferentes de cero:

$$H_3: a \neq 0, d \neq 0$$

Mapeo de Intervalo Compuesto presenta 8 modelos para los análisis. En ellos se especifican los marcadores usados como cofactores, es decir, como puntos de referencia en el genoma para ubicar un QTL en un área determinada y esos cofactores pueden encontrarse ligados a los QTLs.

Modelo 1: Todos los marcadores que han sido probados en la población son usados como cofactores o puntos de referencia que el modelo de regresión tiene en cuenta para detectar QTL. Este es el modelo I de Zeng (1994).

Modelo 2: Los QTLs. pueden ser encontrados sin usar marcadores ligados, es decir, tomando como referencia un marcador que se encuentre lejos de la región de ubicación de QTL Este es el modelo II de Zeng (1994).

Modelo 3: Todos los marcadores que han sido probados en la población no son incluidos en el modelo de regresión para detectar los QTLs. Por lo tanto solo se seleccionan los marcadores que se necesitan en el modelo dando rangos de intervalo. Esto es también conocido como mapeo de intervalo y es el mismo método de Lander y Botstein's (Lander & Bostein, 1989).

Modelo 4: Para detección de QTLs en un cromosoma en particular solo se toma un marcador de cada cromosoma como punto de referencia excepto para el cromosoma sobre el que se quiere detectar QTL ya que en este no se toma ningún marcador como cofactor.z

Modelo 5: Dos marcadores de cada cromosoma son tenidos en cuenta como cofactores para detectar QTLs. Los otros marcadores del cromosoma que estén a mas de 10 cM de los marcadores que flaquean el área de prueba no son tenidos en cuenta.

Modelo 6: Este modelo fue el empleado por el método de CIM para la detección de QTLs en el presente estudio. Este modelo requiere de dos parámetros: El número de marcadores que han sido incluidos en el mapa de ligamiento y el intervalo estándar entre cada marcador, es decir, cada cuantos cM el modelo de regresión actúa. Este modelo permite recoger los marcadores más importantes en la detección de los QTLs.

Modelo 7: Los modelos 7 y 8 son aplicados para mapeo de intervalo compuesto. Emplea marcadores virtuales, es decir, que son asignados por el programa y creados como estimativos o puntos de referencia para ubicar las posiciones de los QTLs.

Modelo 8: Este modelo es similar al modelo siete excepto por que en lugar de usar marcadores virtuales, los marcadores más cercanos que flanquean al QTL putativo son usados como cofactores.

El modelo de Mapeo de Intervalo Compuesto empleado en el presente estudio fue el 6, utilizando todos los marcadores del mapa de ligamiento para la detección de QTLs y una distancia de 10 cM en la cual el modelo de regresión actúa.

2.7 Mejoramiento convencional en plantas Vs Mejoramiento molecular

2.7.1 Mejoramiento convencional

El mejoramiento tradicional de plantas se ha basado principalmente en la selección de características fenotípicas de interés agronómico. Para ello la práctica más común ha sido introgresar características deseables de un genotipo donador a otro recurrente. Para introgresar determinada característica de interés a un genotipo, hay que tener en cuenta las condiciones ambientales particulares a las cuales están adaptados los genotipos donadores y recurrentes, puesto que cuando es modificado el lugar o región de siembra de estos materiales hay discrepancia ambiental y los cultivares pueden no responden de la forma esperada (Eswaran *et al.*, 1997).

Cultivares a los cuales se les ha introgresado la característica de tolerancia a suelos ácidos, no han cumplido con las expectativas de los mejoradores convencionales de plantas, cuando los materiales mejorados son sembrados en condiciones de campo, debido a que el cultivo no está adaptado a las condiciones ambientales a las cuales es sometido (Eswaran *et al.*, 1997).

El cultivo de maíz ha sido sometido a programas de mejoramiento genético con base en métodos tradicionales y se han desarrollado genotipos eficientes para las

características de toma de fósforo y tolerancia a la toxicidad por aluminio pero en muy largo plazo.

Los mejoradores tradicionales se han valido de métodos biométricos que son usados para analizar características cuantitativas estadísticamente, para ello se tienen en cuenta diferentes estimadores entre ellos la varianza fenotípica que es dada por la suma de tres componentes: varianza ambiental (V_E), varianza genética (V_G), y la varianza resultante de la interacción entre la varianza genética y la ambiental (V_{GE}) (Klug & Cummings, 1999).

Dentro del mejoramiento clásico, la variación observada entre diferentes líneas altamente homocigotas en un ambiente constante es principalmente debido a factores genéticos (V_g). Mientras que la variación observada dentro de miembros de la misma población de líneas altamente homocigotas bajo diferente condición ambiental es debida principalmente a factores no genéticos, los cuales son generalmente denominados factores ambientales (V_E). La importancia de este fenómeno de genética versus factores ambientales puede ser atribuida al índice de heredabilidad (H^2) en sentido amplio, el cual puede ser calculado usando un análisis de varianza entre individuos de conocida relación genética. Dentro de este contexto, un valor de H^2 que se aproxime a 1.0 indica que las condiciones ambientales tienen poco impacto en la varianza fenotípica en la población estudiada (Klug & Cummings, 1999).

La información relacionada con heredabilidad es muy útil en mejoramiento de animales y plantas como una medida del potencial de respuesta a la selección. En ese caso un diferente estimativo de heredabilidad puede ser usado (h^2) en sentido estrecho, basado en un subcomponente de la varianza genética denominado como una varianza aditiva (V_A). Es decir, que la varianza genética está compuesta por la varianza aditiva (V_A) que resulta del efecto promedio de componentes aditivos de los genes, la varianza dominante (V_D) que resulta de la desviación de los componentes aditivos que ocurre cuando la expresión fenotípica en heterocigotos no es

precisamente intermedia entre los dos homocigotos (Klug & Cummings, 1999). Por lo tanto, toma mayor tiempo para el mejoramiento convencional considerar cada uno de estos efectos de variación en la selección de genotipos, eficientes en determinadas características,

El índice de heredabilidad considerado por los mejoradores tradicionales de plantas, dentro de un programa de mejoramiento genético, retarda también la selección, puesto que la heredabilidad es baja para características que son esenciales para la supervivencia de un organismo, principalmente porque el componente genético se ha demorado mucho tiempo en perfeccionarse a lo largo de la evolución. Mientras que las características que tienen un menor efecto en cuanto a la supervivencia de un organismo muestran valores mas altos de heredabilidad (Klug & Cummings, 1999). Por lo tanto, rasgos tales como, resistencia a enfermedades, alto rendimiento (en cuanto a número de semillas o frutos) y resistencia a estreses abióticos, que son características relevantes en la supervivencia de un organismo, así como rasgos de interés económico, presentarán un índice bajo de heredabilidad, siendo uno de los principales problemas con los que se han encontrado los mejoradores tradicionales de plantas.

2.7.2 Mejoramiento asistido por marcadores moleculares microsatélites

El mejoramiento molecular es la herramienta involucrada con el uso de marcadores de ADN para facilitar el proceso de mejoramiento genético y selección de genotipos superiores. Para los mejoradores convencionales las metodologías moleculares pueden convertirse en una herramienta que complementaría las técnicas de mejoramiento clásico (Forbes, 2000).

El nacimiento de la tecnología llamada mejoramiento molecular, seleccionando los genomas usando marcadores de ADN ha abierto la posibilidad de que los rasgos

morfoagronómicos de carácter cuantitativo sean estudiados de una forma más sencilla y que eventualmente podrían transformar el camino de la industria agrícola desarrollando nuevas variedades que mejoren la productividad para el agricultor y ofrezca más alternativas para el consumidor (Forbes, 2000).

Investigadores en todo el mundo están implementando las herramientas moleculares dentro del estudio del mejoramiento de los cultivos, concluyendo de esta forma que la tasa mas alta de mejoramiento de los cultivos se obtiene cuando se integran tanto características morfológicas como datos moleculares, es decir, el mejoramiento convencional y mejoramiento molecular (Stuber *et al.*,1999).

2.7.3 Antecedentes bibliográficos de identificación de QTLs en diferentes especies

El análisis de QTLs ha experimentado una rápida evolución en la pasada década esto ha sido posible gracias a numerosos métodos de mejoramiento tales como análisis de marcadores moleculares (Stuber *et al.*,1999). Las regiones del genoma o QTL de interés, obtenidas de una población pueden posteriormente ser introgresadas a otras variedades, por medio de retrocruzamiento o selección recurrente. De esta forma, tales variedades pueden estar mejor adaptadas a ambientes específicos. El rápido descubrimiento y transferencia de estos QTL's de germoplasmas no adaptados a germoplasmas adaptados abre la puerta para la expansión de la base genética de plantas de cultivo (Forbes, 2000).

Para el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) la deficiencia de fósforo resulta ser el segundo factor que más limita su producción, la naturaleza genética de este fenómeno ha sido abordada por medio de la identificación de QTLs mediante estudios realizados por Reiter *et al.*, (1991) y Kaeppler *et al.*, (2000), los cuales han encontrado regiones del genoma, de diferentes poblaciones de maíz, relacionadas con la característica de

deficiencia de fósforo. En otras especies de cultivo, como el arroz (*Oryza sativa*), también han sido identificados QTLs relacionados con la eficiencia en la toma de fósforo (Wissuwa & Ae, 2001).

El estrés por sequía, otro de los factores que limita la producción del cultivo de maíz, ha sido analizado también dentro de un marco genético, y han sido identificados QTLs relacionados con los tiempos de floración masculina y femenina (Ribaut *et al.*, 1996). La importancia de identificar regiones del genoma relacionadas con los tiempos de floración dentro de la planta de maíz, radica en que los desordenes de sincronía floral son dependientes de la intensidad del estrés por sequía, lo cual afecta en gran medida la producción del cultivo. Estudios previos, han determinado que la eficiencia de transpiración es una característica que también contribuye a la resistencia de sequía en la especie *Stylosanthes scabra* (Thumma *et al.*, 1998), una especie de pasto ampliamente sembrada en los trópicos semiáridos del norte de Australia, donde la sequía constituye el principal problema. A través de la detección de QTLs relacionados con sequía en *Stylosanthes scabra*, en el estudio realizado por Thumma *et al.*, (2001), fue posible establecer que el área foliar específica está más relacionada con la producción de biomasa que con la eficiencia de transpiración.

La localización de QTLs relacionados con la eficiencia en el uso del agua, también constituye en gran avance en la selección de genotipos resistentes a sequía, como es el caso de la soya, donde ha sido posible identificar cuatro QTL asociados con el uso eficiente del agua (Mian *et al.*, 1996). En otras especies como el tomate, marcadores moleculares como los RFLP han sido usados para mapear QTL de diferentes características de interés (Nienhuis *et al.*, 1987, Martin *et al.*, 1989, Paterson *et al.*, 1988).

La acidéz de los suelos tropicales resulta ser el factor más limitante para la producción del cultivo de maíz, los bajos niveles de nutrientes esenciales para el crecimiento de las plantas tales como el N, Ca, Mg, Mo y P, así como las altas

concentraciones tóxicas de elementos como el Al y Mn son componentes de los suelos ácidos. Para analizar la base genética de las plantas de maíz frente a la deficiencia de nutrientes y altas concentraciones tóxicas del Al y Mn de los suelos ácidos, han sido identificados QTLs relacionados con suelos ácidos en la población de maíz empleada en el presente estudio (Navas, 2000). Con el fin de encontrar la base genética de la eficiencia en la toma de fósforo en suelos ácidos, también fueron identificados QTLs. De la misma forma, para tener una aproximación de las regiones genómicas que están relacionadas con la eficiencia en la toma de fósforo y las relacionadas con los suelos ácidos en conjunto, y determinar si existe alguna relación entre estas regiones genómicas, fueron comparados los QTLs relacionados con suelos ácidos (Navas, 2000) y los QTLs de eficiencia en la toma de fósforo (Ortiz, 2002) en la misma población de maíz, , de esta forma la selección de los genotipos se estaría realizando teniendo en cuenta dos factores que son limitantes en la producción de los cultivos.

La localización de QTLs relacionados con características de interés agronómico, puede ser el primer paso para la clonación de loci que presentan una variación continua (Reiter *et al.*, 1991), y que registran un menor grado de heredabilidad, así la selección por medio de métodos tradicionales toma mayor tiempo.

3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

3.1 Formulación del problema

Gran parte de las características de importancia económica en animales y plantas son controladas por varios genes. Estas características son denominadas características cuantitativas y las regiones cromosómicas que controlan tales características se denominan *loci* de características cuantitativas o QTLs. Los avances de las últimas décadas en el campo de la biología molecular han permitido construir mapas genéticos basados en marcadores moleculares, los cuales permiten cubrir el genoma a diferentes intervalos. Lo anterior facilita la correlación de los marcadores moleculares con la característica de interés registrada mediante evaluaciones de campo (Basten *et al.*, 2002).

La toma de nutrientes tales como P, Ca, Mg, K, B por parte de los diferentes cultivos de cereales, tales como arroz, soya y maíz, es controlada por QTLs. Los países que están ubicados en el trópico y subtrópico presentan tierras ácidas, las cuales tienen deficiencias en dichos nutrientes y altas concentraciones de Al y Mn. Colombia es un país tropical y gran parte de sus tierras presentan estas características, que resultan ser factores limitantes para el óptimo desarrollo de los diferentes cultivos de cereales anteriormente mencionados.

El correctivo que los agricultores tradicionalmente han empleado para contrarrestar la acidez e inactivar el Al intercambiable del suelo es la aplicación de cal, así como la aplicación de altas cantidades de fertilizantes, lo que resulta costoso para los agricultores.

En los Llanos Orientales de Colombia existen cerca de 7 millones de hectáreas con características de acidez, altos niveles de Al y Mn y bajos niveles de nutrientes estas tierras pueden ser aprovechadas con la siembra del maíz por medio de la selección de genotipos tolerantes a la acidez y mas eficientes en la toma de nutrientes principalmente de fósforo, ya que éste es el segundo elemento mas limitante después del N y el primero mas costoso para la producción de este cultivo bajo condiciones de acidez del suelo. La selección de tales genotipos por medio del mejoramiento genético asistido por marcadores moleculares MAS, ofrece una alternativa para que los cultivadores de maíz de esta región obtengan cultivos mas productivos que se encuentren adaptados a las condiciones edáficas.

3.2 Preguntas de investigación

¿En la población segregante $F_{2,3}$ de maíz existen QTLs para eficiencia en la toma de fósforo?

¿Los QTLs para una característica varían su expresión a través de los diferentes ambientes?

¿En qué porcentaje explican la varianza fenotípica los QTLs encontrados para todas las variables medidas en el ambiente de bajo fósforo?

¿Es posible seleccionar como eficiente en la toma de fósforo algún genotipo con base en alguna de las características medidas en campo sin necesidad de llegar hasta rendimiento de grano?

¿Existe alguna correlación entre los QTLs encontrados para tolerancia a suelos ácidos y los QTLs hallados para las diferentes aplicaciones de fósforo?

3.3 Justificación

Los marcadores de ADN son herramientas moleculares que unidas a registros de características fenotípicas a través de diferentes ambientes pueden aproximarse a regiones del genoma que estén asociadas con una característica de interés agronómico o QTL. La identificación de QTLs mediante marcadores del tipo microsátélites, permite una selección directa de los genotipos de forma que se ahorra tiempo y costos en la evaluación y análisis en la expresión de los rasgos de interés agronómico, en este caso, eficiencia en la incorporación de fósforo en la planta.

La detección de QTLs para la característica de eficiencia en la toma de fósforo en una población segregante de maíz, evaluada en suelos ácidos de la Altillanura Colombiana, es una metodología de selección asistida por marcadores moleculares (MAS). Este procedimiento requiere emplear los marcadores moleculares para cubrir una buena parte del genoma así como, evaluar morfoagronómicamente los genotipos de la población con respecto a características relacionadas con la toma de fósforo bajo condiciones de toxicidad por aluminio. Lo anterior con el objetivo de que posteriormente sean analizados conjuntamente los datos fenotípicos y genotípicos para detectar regiones del genoma o QTLs relacionados con eficiencia en la toma de fósforo.

Una vez localizados los QTLs para la característica de eficiencia en la toma de fósforo, se deben hacer posteriores evaluaciones para la misma característica en otras localidades para determinar si los QTLs se mantienen a través de diferentes ambientes. Si la ubicación de los QTLs es constante a través de los diferentes ambientes, quiere decir que se ha localizado una región de interés asociada con determinada característica morfoagronómica relacionada con eficiencia en la toma de fósforo. Esta región genómica puede ser introgresada a genotipos de maíz élite, por medio de selección recurrente o retrocruzamiento.

La selección de genotipos de maíz que sean más productivos (en términos de rendimiento de grano), a través de medios convencionales tales como evaluaciones morfoagronómicas en un ciclo de siembra o por medio de métodos cuantitativos, incrementa los costos y el tiempo de selección. La identificación de regiones cromosómicas (QTLs) relacionadas con la eficiencia en la toma de fósforo de la población segregante de maíz bajo estudio, podría ser aplicable a un programa de selección asistida por marcadores moleculares (MAS) para mejorar la eficiencia en la toma de fósforo con relación a la tolerancia de toxicidad por Al del cultivo.

Por medio de un programa de MAS que incluye técnicas tales como los marcadores moleculares, se ahorra tiempo y costos de selección, por lo cual es posible obtener genotipos de maíz eficientes en términos de rendimiento de grano en condiciones de suelos ácidos que presentan bajas concentraciones de nutrientes tales como el fósforo, la selección de estos genotipos de maíz permitirá que la siembra de este cultivo sea ampliamente implementada para que se generen ingresos en la región de la Altillanura Colombiana, de esta forma aumentar la siembra de maíz permitirá contribuir con la construcción de una “capa arable” o suelo óptimo para la agricultura, ya que los genotipos de maíz adaptados a las condiciones edáficas favorecerán el contenido deficiente de materia orgánica en los suelos de esta región.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Identificar regiones del genoma (QTLs) relacionadas con la eficiencia en la toma de fósforo en una población segregante $F_{2,3}$ de maíz (*Zea mays L.*) tolerante a suelos ácidos.

4.2 Objetivos específicos

Incluir nuevos marcadores microsatélites en el mapa de ligamiento inicialmente propuesto por Navas (2000) para la población F_2 .

Correlacionar los datos fenotípicos de la población $F_{2,3}$ relacionados con eficiencia en la toma de fósforo obtenidos en campo con los datos genotípicos de la población F_2 obtenidos mediante los marcadores moleculares para estimar QTLs en la población segregante bajo estudio.

Seleccionar los genotipos más eficientes en la toma de fósforo en condiciones de toxicidad por aluminio y comparar con la respuesta del trabajo previo de Navas (2000) para tolerancia a suelos ácidos en la misma población.

Desarrollar curvas de evaluación sobre el comportamiento de los genotipos de maíz frente a la deficiencia de fósforo en condiciones de toxicidad por aluminio.

5 MATERIALES & METODOS

5.1 Material vegetal

El ADN extraído por CIMMYT según el protocolo de Saghai-Marooof *et al.*, (1984) de la población segregante F_2 (220 genotipos), obtenida a partir del cruzamiento de dos líneas endocriadas SA5-HC1-1-5-1-1-1-7 valorada como tolerante a suelos ácidos x SA4-HC7-1-4-1-2-11-1 valorada como susceptible a suelos ácidos por CORPOICA-CIMMYT (Navas, 2000), fue empleado para correr los marcadores moleculares microsátélites. Las variables morfoagronómicas fueron registradas en la población segregante $F_{2,3}$ (180 genotipos) resultante de la misma cruce.

5.2 Lugar de estudio

La finca Lagos de Menegua donde se llevó a cabo la siembra en campo de la población $F_{2,3}$, está ubicada en el departamento del Meta kilómetro 17 vía Puerto López – Puerto Gaitán (Figura 1.) La precipitación promedio registrada en la finca Lagos de Menegua localidad de evaluación en el primer ciclo del año 2002, durante el cultivo del presente estudio fue de 264.8 mm (Figura 2).

La finca Lagos de Menegua donde fue llevada a cabo la siembra, presenta suelos del orden Oxisoles del grupo Ferralsol, estos suelos presentan deficiencias en elementos tales como P, Ca, Mg y Mo y presentan altas concentraciones tóxicas de elementos como el Fe, Al y Mn (Baligar & Fageria, 1997).

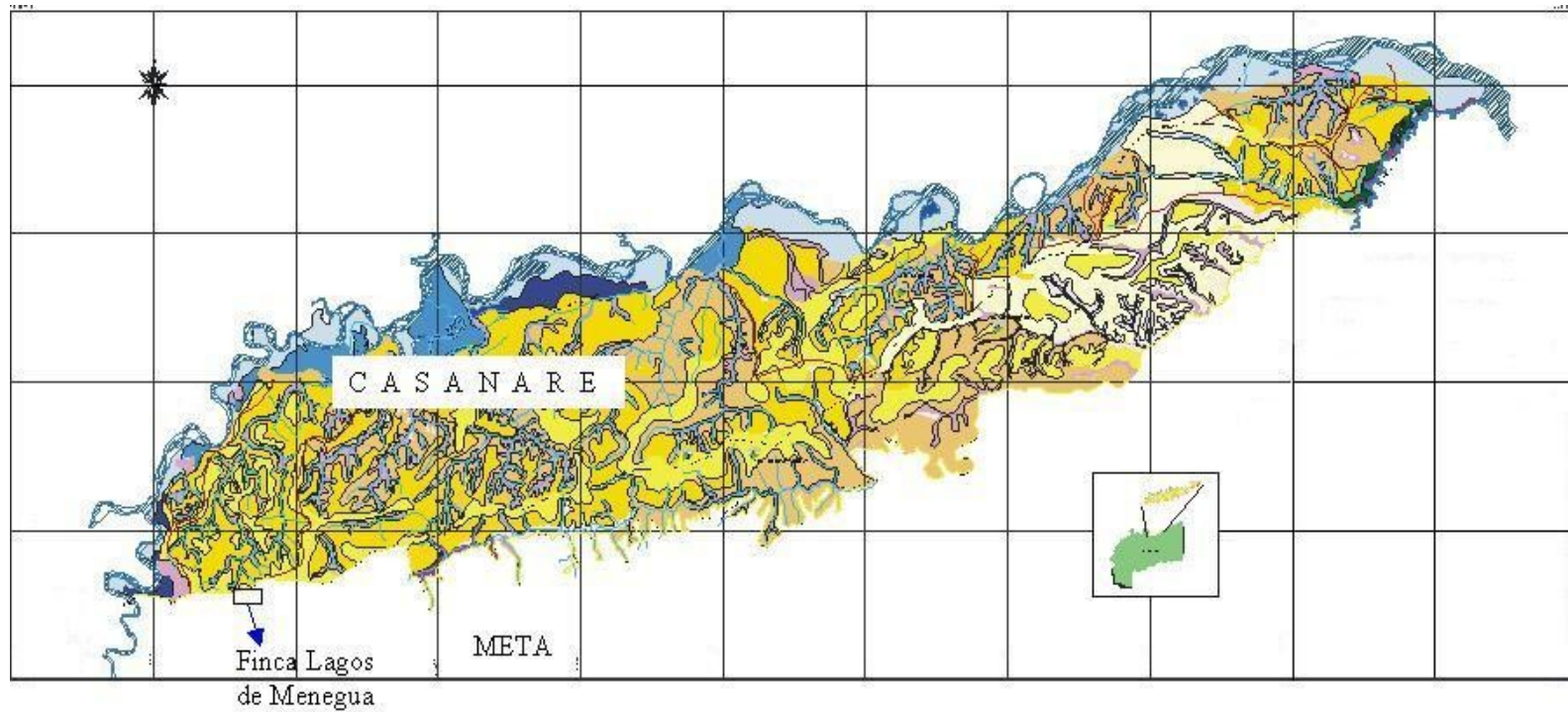


Figura. 1¹ Ubicación de la finca Lagos de Menegua

¹ Cortesía Dra Elizabeth Aguilera G. Investigadora del Programa Nacional de Manejo Integrado de Plagas CORPOICA

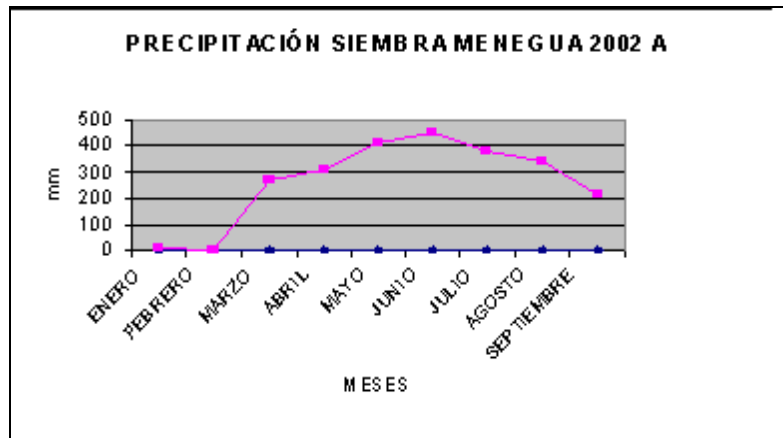


Figura. 2 Precipitación Siembra Lagos de Menegua - Meta 2002 A

5.3 Diseño de la investigación

Se sembró la población $F_{2,3}$ en campo en la Altillanura Colombiana en diseño de alfalattice con dos repeticiones, surcos de 2.5 m, 0.75 m de distancia entre surcos y 16 plantas por genotipo, en dos ambientes de 4 ppm de fósforo, bajo contenido (LP) y 16 ppm de fósforo, alto contenido (HP) los dos bajo una saturación o disponibilidad de aluminio del 65%.

5.3.1 Variables de campo

Durante el primer periodo del año 2002 (durante los meses de mayo a septiembre), los 180 individuos de la población $F_{2,3}$ bajo estudio fueron sembrados en la Altillanura Colombiana en la finca Lagos de Menegua kilómetro 17 vía Puerto López – Puerto Gaitán bajo una saturación de aluminio del 65% combinado con dos ambientes de 4 y 16 ppm de fósforo. Los suelos fueron encalados y tratados con diferentes fertilizantes (Anexo 4), para la obtención de los dos niveles de fósforo y la saturación de aluminio deseada.

Las características morfoagronómicas registradas fueron:

Floración femenina (FEM), fue medida de acuerdo al número de días desde la siembra hasta aparición de los estigmas en el 50% de las plantas. Floración masculina (FMAS), fue registrada como el número de días desde la siembra hasta que el 50% de las plantas presentaran espiga y a su vez el 50% de estas se encontraran produciendo polen. Intervalo de floración (ASI), fue calculado como la diferencia en días entre la FEM y la MAS. Producción de grano (YLD) en t/ha^{-1} , fue calculada con base en el peso total de las mazorcas de la parcela en kg ajustado a 15% de humedad, el porcentaje de humedad fue tomado de los granos de diferentes mazorcas de cada tratamiento incluyendo las dos repeticiones por medio de un medidor de humedad Dickey John[®]. Para calcular el peso en campo también se aplicó un factor de corrección de peso en campo con respecto al peso de la tusa de 0.8 y un factor de corrección de área de 1.875 m^2 .

Número de mazorcas por planta o prolificidad (PROLI), fue calculado dividiendo el número total de mazorcas cosechadas por el número de plantas del respectivo genotipo. Altura de planta (AP), fue medida en centímetros desde la superficie del suelo de donde sale la planta hasta la inserción de la espiga. Altura de la mazorca (AM), centímetros desde la inserción de la mazorca hasta el nivel del suelo desde donde sale la planta. (Navas, 2000). Número de plantas cosechadas (PLCOS), fue registrado como el número de plantas por genotipo. Volumen radical (VOLR), registrado por medio de un capacitómetro manual, instrumento que indica el área radical de la planta en unidades de medida de nano Faradios (nF), esta medida permite estimar el volumen radical (Beem *et al.*, 1998), esta medida fue registrada a los 55 días de siembra después de iniciada la floración.

El capacitómetro tiene dos electrodos uno positivo cuyo conector BNC (banana caimán) es de color rojo y otro negativo cuyo conector BNC (banana caimán) es de color negro, el conector rojo se conecta a una barra de cobre que debe estar

previamente enterrada en la tierra a 15 cm y el conector negro se conecta en el tallo de la planta de maíz a 6 cm medidos de la superficie del suelo hacia arriba del tallo.

5.4 Marcadores moleculares microsatélites SSR

5.4.1 Extracción de ADN

La extracción del ADN de los parentales y de la población F₂ fue realizada por el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo CIMMYT, bajo el protocolo de Saghai-Marroof *et al.*, (1984).

5.4.2 Selección de *primers* SSR

Navas (2000), generó un mapa de ligamiento con 118 microsatélites para la población F₂ empleada en su estudio. Con el fin de incluir nuevos marcadores al mapa propuesto por Navas (2000) para alcanzar mayor precisión en la detección de QTLs. En el Programa Nacional de Recursos Genéticos y Biotecnología Vegetal PNRGBV de CORPOICA fueron seleccionados de la base de datos de maíz (DB Maize, 2002), GENBANK y de la publicación hecha por Serion *et al.*, (1996) 162 marcadores microsatélites. La síntesis de éstos *primers* fue hecha por los laboratorios Invitrogen en Carlsbad, California._

La selección de los marcadores estuvo basada en los espacios o “gaps” que presentaba el mapa de ligamiento de Navas (2000). De esta forma 162 marcadores microsatélites fueron probados en el ADN de los parentales de la población, 78 en el presente estudio y 84 por Gutierrez (2002 *Comunicación personal*). De los 162 *primers* probados en los parentales de la población 45 fueron polimórficos razón por lo cual fueron probados en los 220 individuos de la población F₂, 20 de estos *primers*

fueron probados en el presente estudio y 25 fueron probados por Gutierrez (2002 *Comunicación personal*).

5.4.3 Condiciones de amplificación

La técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR, con sus diferentes componenetes (Anexo 1) planteada por Kary Mullis (Ferreira & Grattapaglia, 1998) fue empleada para amplificar los microsatélites en el ADN tanto de los parentales como en el de los individuos de la población.

El programa de amplificación de los microsatélites (Anexo 2) fue desarrollado en sistemas de termocicladores MJ Research, Inc[®] PTC-100 basado en Hoisington *et al.*, (1994). Los productos de PCR fueron separados por electroforesis a 140 V por 3-4 h en una cámara de electroforesis de 50 X 22 cm en geles de agarosa 1.5% Metaphor[®] y 1.5% Seakem[®] teñido con 5 ul de Bromuro de Etidio por cada 100 ml de gel en buffer TBE 1X y fotografiado bajo luz ultravioleta en un documentador de geles por medio del programa GeneSnap versión 4.00 SynGene (A Division of Synoptics Cambridge England).

5.4.4 Análisis de SSR y mapa de ligamiento

Los datos genotípicos obtenidos de los *primers* polimórficos en la población segregante bajo estudio fueron introducidos en una matriz de datos diseñada en una hoja de cálculo Microsoft[®] Excel 97, la cual posteriormente fue incluida en el programa GQmol, desarrollado por la Universidad Federal de Vicosa, Brasil por medio del cual se compararon las proporciones de segregación obtenidas con las esperadas por medio de una prueba de Chi-cuadrado, así mismo por medio de este

software se obtuvieron los grupos de ligamiento de los marcadores microsatélites. Kosambi fue la función de mapeo asignada al programa.

5.4.5 Análisis de datos morfoagronómicos

Los datos morfoagronómicos de la población $F_{2:3}$, fueron analizados bajo el diseño de alfa lattice de bloques incompletos, y se realizaron para cada característica en cada ambiente, análisis de varianza que considera como fuentes de variación las repeticiones, las repeticiones de bloques, las líneas o familias y el número de plantas cosechadas. Análisis de medias ajustadas donde se evalúa la variación de cada familia para cada variable en cada repetición y en cada tratamiento, y por último se realizó un análisis de correlación de Pearson para todas las variables en cada ambiente, el cual indica cuales variables están correlacionadas positiva o negativamente. Estas pruebas estadísticas se realizaron mediante el software SAS institute Inc., on line Doc, versión 8, Cary, NC: SAS Institute Inc., 1999.

5.4.6 Análisis de detección de QTLs

Posterior a las pruebas estadísticas fue empleado el programa WinQTL Cartographer versión 1.3 2001,2002 (Statistical Genetics, North Carolina State University, USA), para la detección de QTLs. Las medias ajustadas correspondientes a cada variable fueron integradas con la matriz de datos genotípicos obtenidos por medio de los marcadores moleculares, al software QTL cartographer. El modelo 6 fue el empleado en el presente análisis. El tamaño del intervalo de mapeo o tamaño de ventana fue de 10 cM y el valor el radio de *likelihood* LR o razón de la máxima posibilidad de considerar la presencia de un QTL fue de 11.5

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Correlación y distribución de frecuencias de las características registradas en campo

La correlación realizada entre todas las características evaluadas en campo en el ambiente de LP registró que las únicas variables que son independientes una de la otra son VOLR y ASI (Tabla 1). Mientras que la correlación realizada entre características en el ambiente de HP registró que las variables VOLR – FEM, VOLR – PROLI, VOLR – YLD, FMAS – AM, FMAS – PROLI, FMAS – YLD, ASI – AP, PROLI – AP y PROLI – AM, son independientes una de la otra (Tabla 2).

Tabla 1 Correlación de Person para las características registradas en campo volumen radical (VOLR), floración masculina (FMAS), floración femenina (FEM), sincronía floral (ASI), altura de planta (AP), altura de mazorca (AM), prolificidad (PROLI) y rendimiento de grano (YLD) entre el ambiente de 4 ppm de fósforo (LP).

	VOLR	FMAS	FEM	ASI	AP	AM	PROLI	YLD
VOLR	1.00	- 0.369**	- 0.376**	0.027	0.221**	0.322**	0.356**	0.407**
FMAS	-0.369**	1.00	0.857**	0.209**	-0.237**	-0.313**	-0.309**	-0.401**
FEM	-0.376**	0.857**	1.00	-0.324**	-0.297**	-0.386**	-0.357**	-0.472**
ASI	0.027	0.209**	-0.324**	1.00	0.015**	0.156**	0.104*	0.153**
AP	0.221**	-0.237**	-0.297**	0.127**	1.00	0.712**	0.178**	0.359**
AM	< 0.322**	-0.313**	-0.386**	0.156**	0.712**	1.00	0.222*	0.483**
PROLI	0.356**	-0.309**	-0.357**	0.104*	0.178**	0.222**	1.00	0.624
YLD	0.407**	-0.401**	-0.472**	0.153**	0.359**	0.483**	0.624**	1.00

* Si Pr es menor al 0.05 se rechaza Ho.

** Si Pr es menor al 0.01 se rechaza Ho

Si Pr es mayor 0.05 se acepta Ho

Tabla 2 Correlación de Person para las características registradas en campo volumen radical (VOLR), floración masculina (FMAS), floración femenina (FEM), sincronía floral (ASI), altura de planta (AP), altura de mazorca (AM), prolificidad (PROLI) y rendimiento de grano (YLD) entre el ambiente de 15 ppm de fósforo (HP).

	VOLR	FMAS	FEM	ASI	AP	AM	PROLI	YLD
VOLR	1.00	0.116*	-0.012	0.153**	0.221**	0.136**	0.021	0.072
FMAS	0.116*	1.00	0.62**	0.452**	-0.107*	-0.064	0.025	-0.033

FEM	-0.012	0.622**	1.00	-0.413**	-0.189**	-0.175**	-0.124**	-0.251**
ASI	0.153**	0.452**	-0.413**	1.00	0.087	0.122*	0.167**	0.239**
AP	0.221**	-0.107*	-0.189**	0.087	1.00	0.679**	0.057	0.233**
AM	0.136**	-0.064	-0.175**	0.122*	0.679**	1.00	0.036	0.200**
PROLI	0.021	0.025	-0.124**	0.167**	0.057	0.036	1.00	0.516**
YLD	0.072	-0.033	-0.251**	0.239**	0.233**	0.200**	0.516**	1.00

* Si Pr es menor al 0.05 se rechaza Ho.
 ** Si Pr es menor al 0.01 se rechaza Ho
 Si Pr es mayor 0.05 se acepta Ho

Los resultados de las correlaciones entre las características en los ambientes de LP y HP indican que cuando la fuente de fósforo es adecuada las características VOLR – FEM, VOLR – PROLI, VOLR – YLD, FMAS – AM, FMAS – PROLI, FMAS – YLD, ASI – AP, PROLI – AP y PROLI – AM funcionan de forma independiente, pero cuando existe estrés por fósforo todas las variables excepto por VOLR Y ASI interrelacionan entre si como un conjunto en la planta.

Debido a que el fósforo es un elemento constituyente de moléculas involucradas en la reproducción tales como ácidos nucleicos, fosfolípidos y la molécula energética de la célula el Adenosín Trifosfato ATP, la carencia de una fuente adecuada de éste puede generar alteraciones en las rutas metabólicas y retraso en los procesos reproductivos, es por ello que la característica de volumen radical, que es uno de los medios por los cuales la planta accede al fósforo, está correlacionada con la aparición de los órganos reproductivos de la planta de maíz como son la espiga (FMAS) y la panoja (FEM) pero a su vez

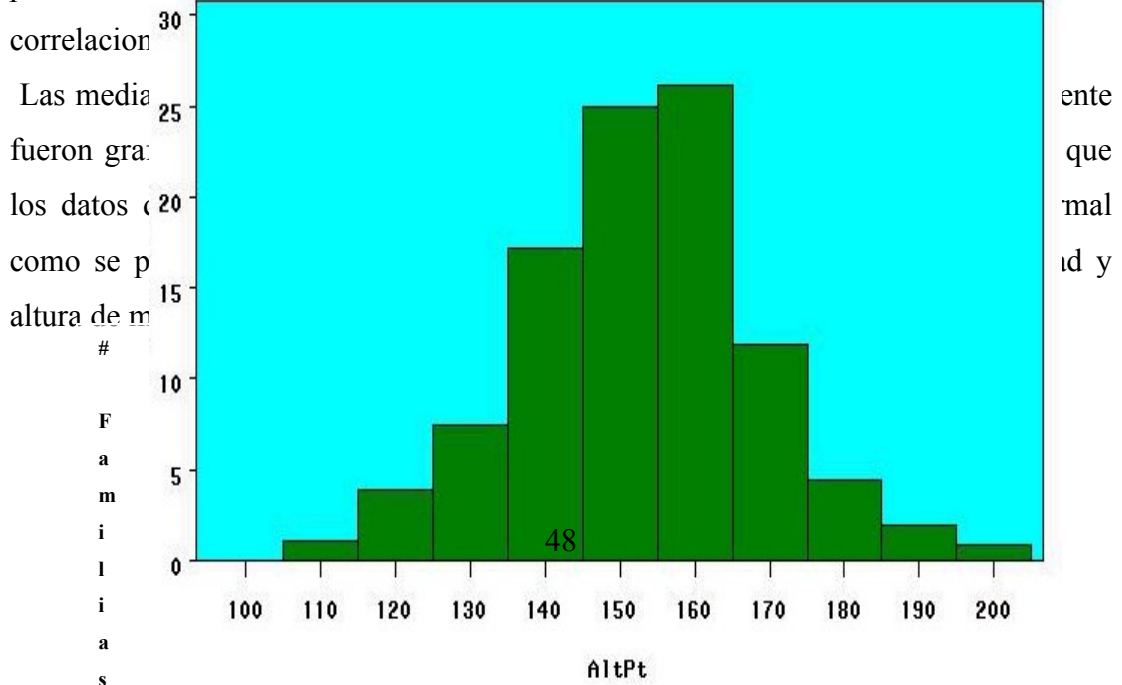


Figura. 3 Distribución de las medias ajustadas de la población $F_{2,3}$ para altura de planta AP en el ambiente de alto fósforo (HP) y 65 % de saturación de Aluminio $X = 150.11$ $Sx = 12.45$. Lagos de Menegua – Meta 2002 A.

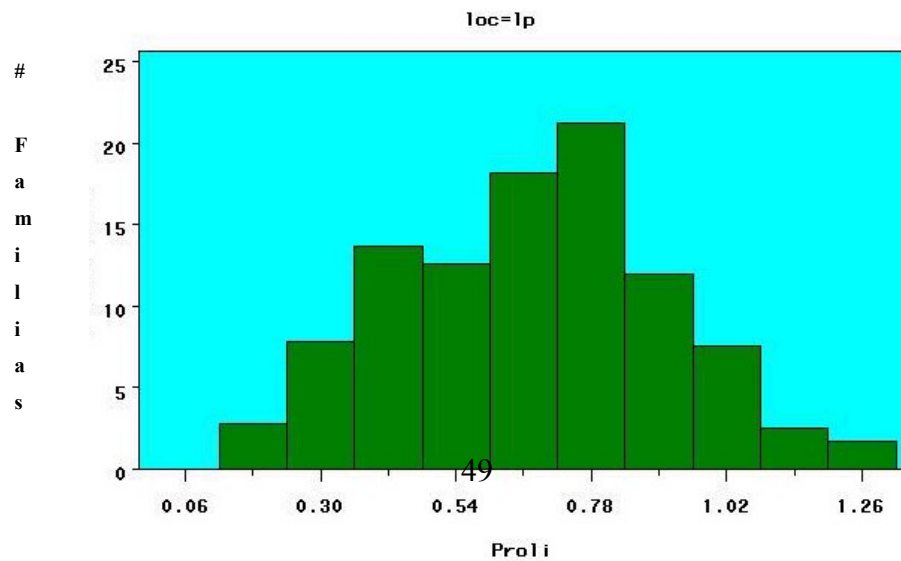


Figura. 4 Distribución de las medias ajustadas de la población $F_{2,3}$ para prolificidad PROLI en el ambiente de bajo fósforo (LP) y 65 % de saturación de Aluminio $X= 0.670$ $S_x = 0.19$. Lagos de Menegua – Meta 2002 A.

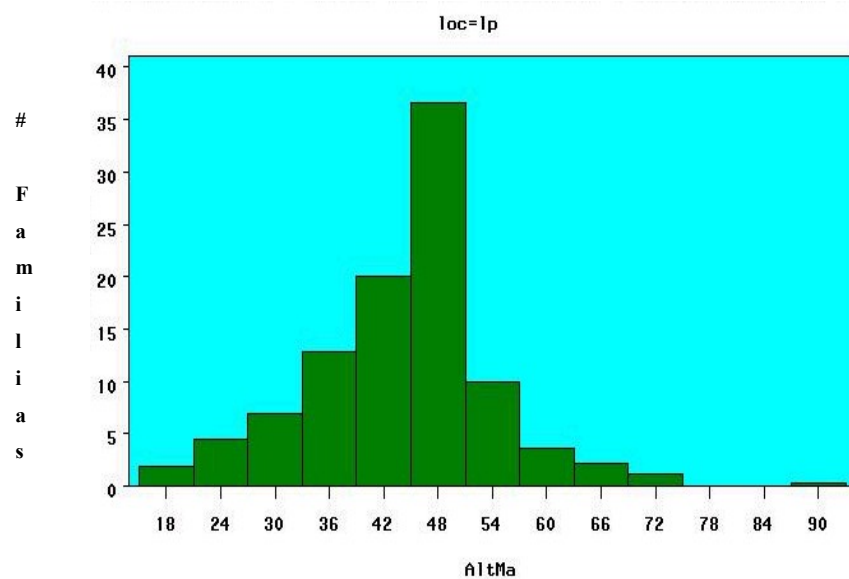


Figura. 5 Distribución de las medias ajustadas de la población $F_{2,3}$ para altura de mazorca (AM) en el ambiente de bajo fósforo (LP) y 65 % de saturación de Aluminio. $X = 43.56$ $S_x = 7.16$. Lagos de Menegua – Meta 2002 A.

En los diferentes ambientes para todas las características evaluadas en campo se registraron genotipos o familias de la población que se destacaron por los valores alcanzados. Como es el caso de la familia 4 en el ambiente de alto fósforo (HP) que presentó el valor mas alto para VOLR con un valor de 66 nF, la media general fue de 28.79 nF. El genotipo 108 registró el valor mas bajo de 0,008 en ASI donde la media general fue de 0.94. De la misma forma el genotipo 202 registró también un valor alto de volumen radical 43.51 nF pero su valor de sincronía floral fue de 3,1 días. El mismo genotipo en un ambiente de bajo fósforo (LP) obtuvo el mayor valor de

VOLR con 44.32 nF y en ASI un valor de 0.53 días. Lo anterior indica que en el ambiente de estrés por fósforo se alcanzó el máximo valor de volumen radical con un alto valor de sincronía floral, a pesar de que las características VOLR – ASI no mostraron estar relacionadas (Tabla 1). Mientras que en un ambiente de alto fósforo el valor de volumen radical disminuyó al obtenerse un valor mas bajo de sincronía floral.

Para la característica de rendimiento de grano en el ambiente de alto fósforo (HP), la familia 144 registró el valor mas alto para YLD con 3.76 t/ha donde la media general fue 1.18 t/ha. En este mismo ambiente el genotipo registró el valor mas alto para prolificidad con 1.1, la media general fue de 0.67.

Para el ambiente de bajo fósforo (LP), las familias 2 y 195 se distinguieron por alcanzar los mayores valores para las características de, VOLR, AP, AM, PROLI y YLD (Tabla 3). Para la característica de YLD en el ambiente de bajo fósforo, el genotipo 2 alcanzó un valor de 1.61 t/ha superior al ambiente de alto fósforo (HP). El registro superior de rendimiento de grano obtenido por el genotipo 2, en un ambiente de bajo contenido de fósforo podría indicar que es un material eficiente en la extracción de fósforo del suelo y en la traslocación de este elemento al grano.

Para las otras variables de FEM, FMAS y ASI los valores de los genotipos 2 y 195 estuvieron dentro del promedio de la población. Otro genotipo como el 202 también se distinguió por sus registros de 44.37 nF en VOLR y 1.02 en PROLI también para el ambiente de bajo fósforo (LP).

Tabla 3 Valores de las Familias 2 y 195 en las características de VOLR, AP, AM, PROLI y YLD, FEM, FMAS y ASI en el ambiente de bajo fósforo (LP).

CARACTERISTICA	FAMILIA 2	FAMILIA 195	Promedio General
VOLR	38.23 Nf	24.73 nF	20.31 Nf
AP	151.16 cm	155.4 cm	123.31 cm

AM	66.68 cm	60.81 cm	43.56 cm
PROLI	1.04	1.04	0.670
YLD	4.1 t/ha	2.81 t/ha	1.096 t/ha
FEM	59.7 días	59.39 días	60.16 días
FMAS	59.22 días	5.81 días	59.58 días
ASI	0.48 días	0.41 días	0.57 días

Los valores superiores al promedio de la población alcanzados por los genotipos 2, 195 y 202 para la característica de VOLR en condiciones de estrés por fósforo (Tabla 3), podrían indicar que estos genotipos en ambientes de estrés por fósforo dirigen su crecimiento vegetativo hacia un buen desarrollo radical para poder tener mayor superficie de absorción de fósforo, lo que facilita la absorción de este elemento. Estos resultados estarían de acuerdo con Alves *et al.*,(2002), el cual plantea que el crecimiento diferencial del sistema radical puede explicar en parte la eficiencia de la absorción de fósforo del suelo por parte del maíz

El genotipo 195 presenta la misma distribución que el genotipo 2 puesto que para el ambiente de HP en rendimiento mostró un resultado de 2.78 t/ha registro mayor al promedio general de la población de 1.182 t/ha , pero a su vez el rendimiento en LP fue mayor al promedio general de 1.096 t/ha mostrando un valor de 2.81 t/ha, es decir, 0.03 t/ha superior en un ambiente de estrés por fósforo. Este mismo material también registró un valor sobresaliente de 1.04 en PROLI y 60.81 cm en AM.

Los resultados de los genotipos 2 y 195 obtenidos para las variables de AM, YLD y PROLI (Tabla 3), podrían confirmar que existe una relación positiva entre estas características en un ambiente de estrés por fósforo. Esta relación puede estar favorecida por la ubicación de la mazorca en la planta, es decir, la ubicación de la mazorca en la mitad de la planta favorecerá el llenado de ésta, lo que se verá reflejado en el rendimiento de grano y en la prolificidad.

Cuando dos características están relacionadas positivamente entre si, significa que cuando una de las variables aumenta la otra también aumentará por lo tanto los resultados de correlación entre variables obtenidos para las familias 2, 195 y 202

pueden indicar que además de que las variables están relacionadas entre si (Tabla 1), los genotipos también son eficientes integrando todas las características en conjunto para que el resultado final de YLD también sea eficiente en términos de rendimiento de grano.

En ambientes combinados de fósforo (15 y 4 ppm) el genotipo 2 mostró el mayor valor de YLD con 3.28 t/ha, la media general fue de 1.13. También registró valores altos para AP con 161.43 cm y AM con 62.71 cm, las medias generales fueron de 136.71 cm y 50.68 cm respectivamente. Los genotipos 68 y 195 se destacaron por alcanzar valores superiores al promedio de la población en YLD con 1.67 t/ha y AP con 172.46 cm para el primero y 2.77 t/ha en YLD y 163.31 cm en AP para el segundo genotipo. El genotipo 88 obtuvo un valor de 167.33 cm para AP y 63.53 cm para AM.

El diseño alfa lattice empleado en el análisis de todas las características morfoagronómicas fue eficiente, puesto que en el análisis de varianza realizado, el efecto de bloques fue significativo para todas las características en todos los ambientes excepto para YLD y PROLI en alto fósforo, AP, ASI y YLD en bajo fósforo y PROLI y ASI en ambientes combinados (Anexos 5, 6 y 7). En el mismo análisis de varianza, todas las características revelaron diferencias significativas excepto por VOLR en el ambiente de alto fósforo, PROLI en alto fósforo y ambientes combinados y ASI en los dos ambientes de fósforo.

6.2 Genotipos eficientes en YLD.

Debido a que la característica de rendimiento de grano (YLD) es la que finalmente se busca seleccionar, esta característica fue comparada entre los genotipos de la población segregante $F_{2,3}$ en cinco ambientes ácidos. El Primer ambiente fue en Villavicencio con 55 % de saturación de aluminio (V55), el segundo en Villavicencio

con 65 % de saturación de aluminio (V65) y el tercero en Ayapel con 65 % de saturación de aluminio (AYA 65), evaluados por Navas (2000), y en dos ambientes ácidos de Puerto López con 65 % de saturación de aluminio uno bajo concentración de fósforo 4 ppm (LP) y el segundo con concentración de fósforo de 15 ppm (HP), evaluados en el presente estudio.

Los resultados del presente estudio mostraron que las familias de la población con los valores mas altos para YLD en t/ha en los dos ambientes de fósforo fueron la 2, y la 195 (Tablas 4 y 5). También las familias 144 y 89 sobresalieron en el ambiente de HP (Tabla 4).

Por medio de las comparaciones realizadas entre los genotipos de la población F_{2:3} a través de los 5 ambientes ácidos (V55, V65, AYA65, Puerto López 65 con dos niveles de fósforo de 4 y 15 ppm) para la característica de rendimiento de grano YLD, se seleccionaron las 10 principales familias destacándose las familias 2 y 195 cuando fueron comparadas a través de los dos ambientes de fósforo (4 y 15 ppm en Puerto López 65%) y el ambiente de Villavicencio con 65 % de saturación de Aluminio (V 65) (Tablas 4 y 5).

Tabla 4 Comparación de los 10 genotipos con mayor rendimiento de grano (YLD) encontrados en el presente estudio bajo el ambiente de alto fósforo (HP) y en el estudio de Navas (2000) en tres ambientes ácidos V55, V65 y AYA 65.

Genotipo	Rendim t/ha	V 55 Rendim t/ha	V-65 Rendim t/ha	AYA 65 Rendim t/ha
144	3.76	0.92	4.98	0.7
89	2.96	0.74	4.58	1.59
195	2.78	1.25	4.49	0.69
2	2.49	1.31	7.3	1.28
203	2.3	0.77	4.88	0.57
132	2.14	1.22	5.24	0.65

155	2,12	0.69	5.78	0.78
53	2,08	1.36	4.42	0.73
52	2,02	0.78	5.67	0.99
68	1,95	1.27	4.01	0.83
Media	1.182			
Gral				
Desviac	0.6080			
Estandar				

Tabla 5 Comparación de los 10 genotipos con mayor rendimiento de grano (YLD) encontrados en el presente estudio bajo el ambiente de alto fósforo (LP) y en el estudio de Navas (2000) en tres ambientes ácidos V55, V65 y AYA 65.

Genotipo	Rendim t/ha	V 55 Rendim t/ha	V-65 Rendim t/ha	AYA 65 Rendim t/ha
2	4.1	1.31	7.3	1.28
195	2.81	1.25	4.49	0.69
143	2.76	1.18	5.1	0.59
148	2.71	0.18	2.96	0.83
65	2.56	0.6	4.02	0.75
215	2.44	1.38	4.53	0.73
156	2.42	0.7	5.91	0.51
208	2.25	0.67	3.7	0.34
146	2.21	0.66	4.35	0.84
167	2.1	1.62	4.36	0.85
Media	1.096			

Gral				
Desviac	0.5265			
Estandar				

6.3 Segregación de bandas microsatélites en la población F₂ (SA5-HC1-5-1-1-1-7 x SA4-HC7-1-4-1-2-11-1).

Se probaron 78 microsatélites entre los parentales de la población F₂ bajo estudio y se seleccionaron aquellos que presentaron polimorfismos claros, los cuales fueron amplificados en toda la población F₂. Para la amplificación de la cadena de ADN molde blanco con los diferentes *primers*, se ajustaron las temperaturas de alineamiento (Anexo 3). Del total de los *primers* probados el 25.6 % (20 pares de *primers*) presentó polimorfismos entre los parentales, es decir los productos de amplificación presentaron diferentes pesos moleculares. El polimorfismo indica que las bandas amplificadas son alelos que se diferencian por su peso molecular. En la Figura 6 se pueden observar las bandas o alelos polimórficos entre los parentales p7 y p8 en los carriles 6 y 7 respectivamente, amplificados con el *primer* o marcador *umc 1653*.

Por otro lado algunos marcadores presentaron bandas monomórficas o bandas del mismo peso molecular como se presenta en la Figura 6 en los carriles 14 y 15 para los parentales p7 y p8 respectivamente, amplificadas con el *primer* microsatélite umc 1957. El peso estimado de estas bandas fue de 212 pb. Los marcadores monomórficos no permiten discriminar entre los individuos cuales presentan el alelo de uno u otro padre, por esta razón un *primer* que presente monomorfismo entre bandas no es candidato para correrse en la población donde el objetivo es discriminar los genotipos de la población que posean el alelo del parental 7 (tolerante a acidez) y los que presenten el alelo del parental 8 (susceptible a acidez) para que al marcador sea incluido en el mapa de ligamiento.

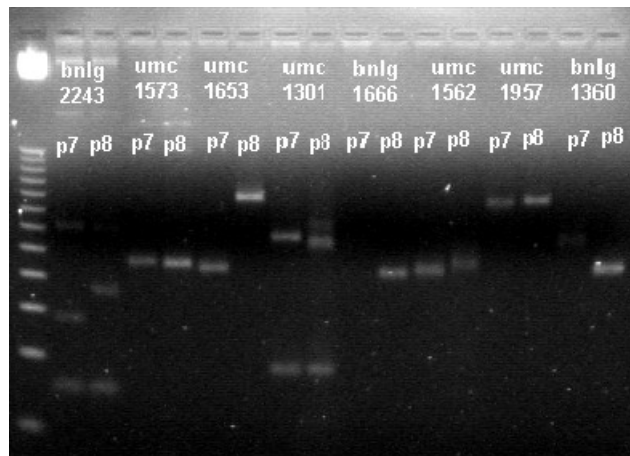


Figura. 6 Electroforesis de ADN de los parentales p7 (SA5-HC1-1-5-1-1-1-7) y p8 (SA4-HC7-1-4-1-2-11-1) de la población F₂ con diferentes *primers* en gel de Methaphor 1.5 % y Seakem 1.5 % teñido con Bromuro de Etidio. Carril 1: Marcador de Peso 25 pares de bases; Carril 2 y 3: *primer* bnlg 2243; Carril 4 y 5: umc 1573; Carril 6 y 7: umc 1653; Carril 8 y 9 : umc 1301; Carril 10 y 11 : bnlg 1666; Carril 12 y 13: umc 1562; Carril 14 y 15: umc 1957; Carril 16 y 17 : bnlg 1360.

En la Figura 7 se puede observar la amplificación de los alelos de 166 pb en el parental p7 y 135 pb en el parental p8 y la segregación de estos alelos en algunos genotipos de la progenie F₂ obtenidos con el marcador umc 1360.

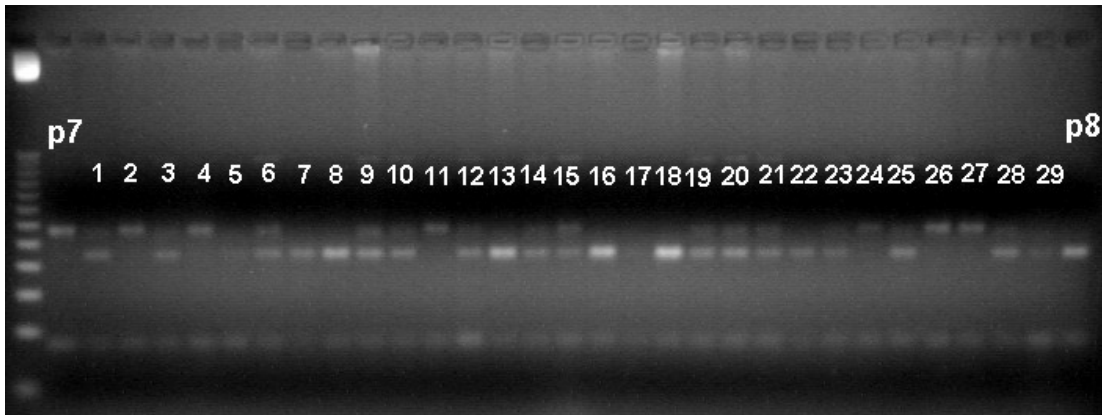


Figura. 7 Segregación de los alelos parentales en los genotipos de la población F₂ utilizando el *primer* microsatélite *bnlg 1360* en gel Methaphor 1.5 % y Seakem 1.5 % teñido con Bromuro de Etidio. Carril 1: Marcador de peso 25 pb; Carril 2: Parental 7 SA5-HC1-1-5-1-1-7; Carriles 3-31: Genotipos segregantes 1-29 y Carril 32: Parental 8 SA4-HC7-1-4-1-2-11-1 (de izquierda a derecha) respectivamente.

La presencia de mas de una banda amplificada por algún marcador en alguno de los dos parentales no se tomo en cuenta para que dicho *primer* sea probado en la población segregante. En la Figura 8 se puede observar el *primer* nc 010 donde el p8 presenta dos bandas. Este primer no fue corrido en la población segregante.

Dentro de los *primers* probados en los parentales P7 y P8 de la población, algunos reportados por Senior *et al.*, (1996) estaban relacionados con algunas funciones en el metabolismo del fósforo del maíz tales como, el activador transcripcional de la síntesis de antocianina, la enzima dikinasa ortofosfato y el activador transcripcional P1 entre otros. De los ocho *primers* reportados por este autor, siete de ellos presentaron bandas monomórficas entre los parentales, por lo cual no fueron corridos en los individuos de la población. Sólo los *primers* relacionados con el marcador microsatélite *phi 065* ubicado en el cromosoma 9 el cual está relacionado con el gen de la enzima fosfoenol piruvato carboxilasa PEPC presentó polimorfismo entre los

parentales. Este polimorfismo se puede observar en la figura 8 en carril 18 (P7) y 19 (p8) donde la banda del parental 7 pesó 141.16 pb y la del parental 8, 126.91 pb.

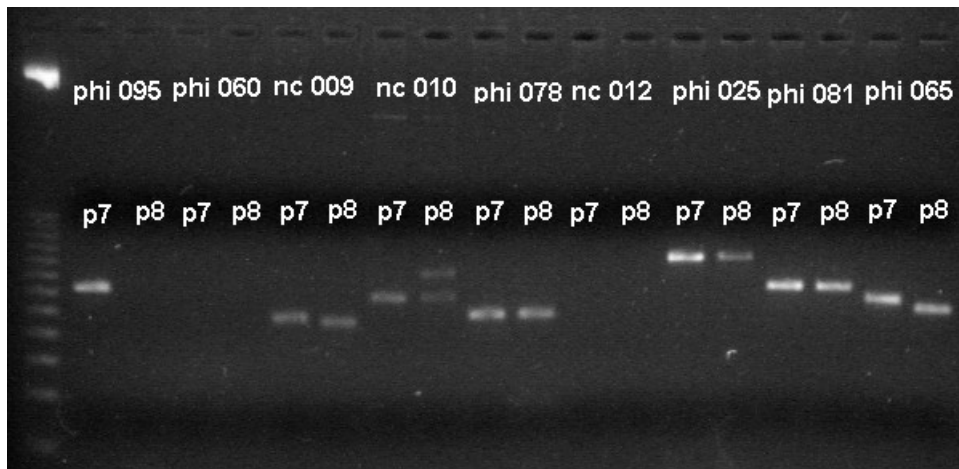


Figura. 8 Electroforesis de ADN de los parentales p7 (SA5-HC1-1-5-1-1-1-7) y p8 (SA4-HC7-1-4-1-2-11-1) de la población F₂ con diferentes *primers* relacionados con alguna característica del metabolismo del fósforo en gel de Methaphor 1.5 % y Seakem 1.5 %, teñido con Bromuro de Etidio. Carril 1: Marcador de peso 25 pb; Carril 2 y 3: primer phi 095; Carril 4 y 5: phi 060; Carril 6 y 7: nc 009; Carril 8 y 9: nc 010; Carril 10 y 11: phi 078; Carril 12 y 13: nc 012; Carril 14 y 15: phi 025; Carril 16 y 17: phi 081 y Carril 18 y 19: phi 065, donde cada marcador presenta p7 y p8 respectivamente.

Dado el polimorfismo de las bandas amplificadas entre los genotipos parentales con los *primers* para el loci *phi* 065, estos fueron seleccionados y corridos en toda la población de 220 genotipos pero no hubo segregación de bandas, es decir, para todos se conservó una sola banda (Figura 9). Como lo reporta Edwards *et al.*, (1987), este evento pudo haber ocurrido antes del desarrollo del cigoto cuando se lleva a cabo la recombinación genética entre los cromosomas homólogos de los parentales lo que puede indicar que en ese lugar no hubo recombinación durante la meiosis o posiblemente esta secuencia está cerca de un centrómero o de regiones heterocromáticas donde suele inhibirse la recombinación genética (Young, 1994).

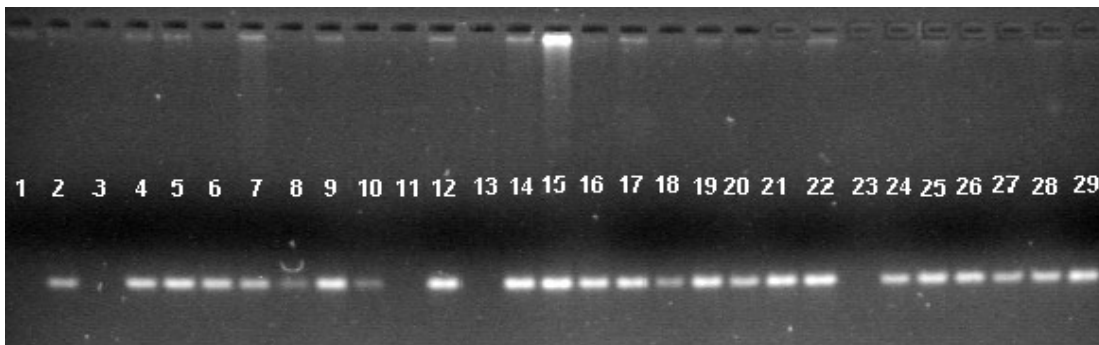


Figura. 9 Patrón de segregación de bandas con los *primers* para el locus *phi* 065 en algunos genotipos de la población segregante en gel de Methaphor 1.5 % y Seakem 1.5 % teñido con Bromuro de Etidio. Carril 1 – 29 : genotipos de la población F_{2:3}.

6.4 Mapa de ligamiento

162 marcadores microsatélites fueron probados en el ADN de los parentales de la población, 78 en el presente estudio y 84 por Gutierrez (2002 *Comunicación personal*). De estos 162 *primers* probados en los parentales de la población 45 fueron

polimórficos razón por la cual fueron probados en los 220 individuos de la población, 20 de estos *primers* fueron corridos en el presente estudio y 25 por Gutierrez (2002 *Comunicación personal*).

De los 20 *primers* probados en el presente estudio los marcadores microsatélites *bnlg* 2181, *umc* 1804 y *phi* 065 ubicado el primero en el cromosoma 8 y el segundo y tercero en el cromosoma 9 (DB Maize, 2002) no presentaron la segregación de bandas de los parentales en la progenie. Otros 7 *primers* tales como el *bnlg* 180, *umc* 1117, *bnlg* 1046, *umc* 1653, *bnlg* 434, *dupssr* 6 y *umc* 1384 no se incluyeron en el mapa debido a que no se ajustaban a la proporción 1:2:1 esperada o porque no ligaban o ligaban en regiones no correspondientes a las indicadas en la base de datos de maíz (DB Maize, 2002) de donde fueron seleccionados. Estos marcadores, al ligar en otras regiones diferentes a las indicadas en la base de datos de maíz, dividían los grupos de ligamiento o aumentaban su longitud. Del total de *primers* probados en la población bajo estudio, 28 de ellos fueron incluidos en el mapa de ligamiento 10 en el presente estudio y 18 por Gutierrez (2002 *Comunicación personal*).

Los datos moleculares (alelos) de los marcadores se codificaron como caracteres multi estado y se registraron en una matriz de marcadores (columnas) por genotipos (filas). La matriz estaba compuesta por 10 microsatélites probados en la población en el presente estudio, 118 marcadores corridos por Navas (2000) y 18 corridos por Gutiérrez (2002 *Comunicación personal*) Para los alelos existían cuatro alternativas de codificación: A para el alelo del parental 7, B para el alelo del parental 8, H para la presencia de los dos alelos y – para pérdida de dato.

Para generar el mapa de ligamiento, la matriz fue procesada en el programa GQmol, desarrollado por la Universidad Federal de Vicosa, Brasil. El mapa de ligamiento fue realizado con un valor máximo de recombinación LOD de 40 y un mínimo de 3, con intervalos de 10 cM basado en la distancia de kosambi.

Con un total de 146 marcadores microsatélites, se generó un nuevo mapa de distancia genética para la población de maíz F₂ (SA5-HC1-5-1-1-1-7 x SA4-HC7-1-4-1-2-11-1) tolerante a suelos ácidos, este mapa presenta una longitud de 1645.7 cM, una distancia promedio entre marcadores de 11.27 cM y diez grupos de ligamiento que corresponden a los 10 cromosomas del maíz (Figura 10). El nuevo mapa de ligamiento presenta 28 marcadores microsatélites más que el mapa original propuesto por Navas (2000), el cual fue generado con 118 marcadores y registraba una longitud de 1836.2 cM, para una distancia promedio de 15.56 cM entre marcadores y diez grupos de ligamiento (Figura 11).

Los marcadores incluidos en el nuevo mapa de ligamiento, cubrieron regiones genómicas del mapa original que presentaban espacios relativamente grandes, como se puede observar en el cromosoma IX entre los marcadores *bmc* 1209 y *bngl* 619 donde se encontraba el espacio más grande con una distancia genética de 61.6 cM. El microsatélite *umc* 1789 ligó entre estos dos marcadores quedando una distancia de 30.63 cM entre *bmc* 1209 y *umc* 1789 y una distancia de 12.34 cM entre *umc* 1789 y *bngl* 619 (Figura 10).

De acuerdo con Frisch *et al.*, (1999) y Darvasi *et al.*, (1993) para alcanzar un buen cubrimiento del genoma en la construcción de un mapa de ligamiento, se requiere que la distancia promedio mínima entre marcadores sea de 20 cM. El mapa original aunque presentaba una distancia promedio entre marcadores de 15.56 cM, su distribución a lo largo del genoma no era homogénea, (Figura 11). Con el nuevo mapa de ligamiento fue posible hacer más homogénea la distribución de los marcadores a lo largo de los grupos de ligamiento (Figura 10).

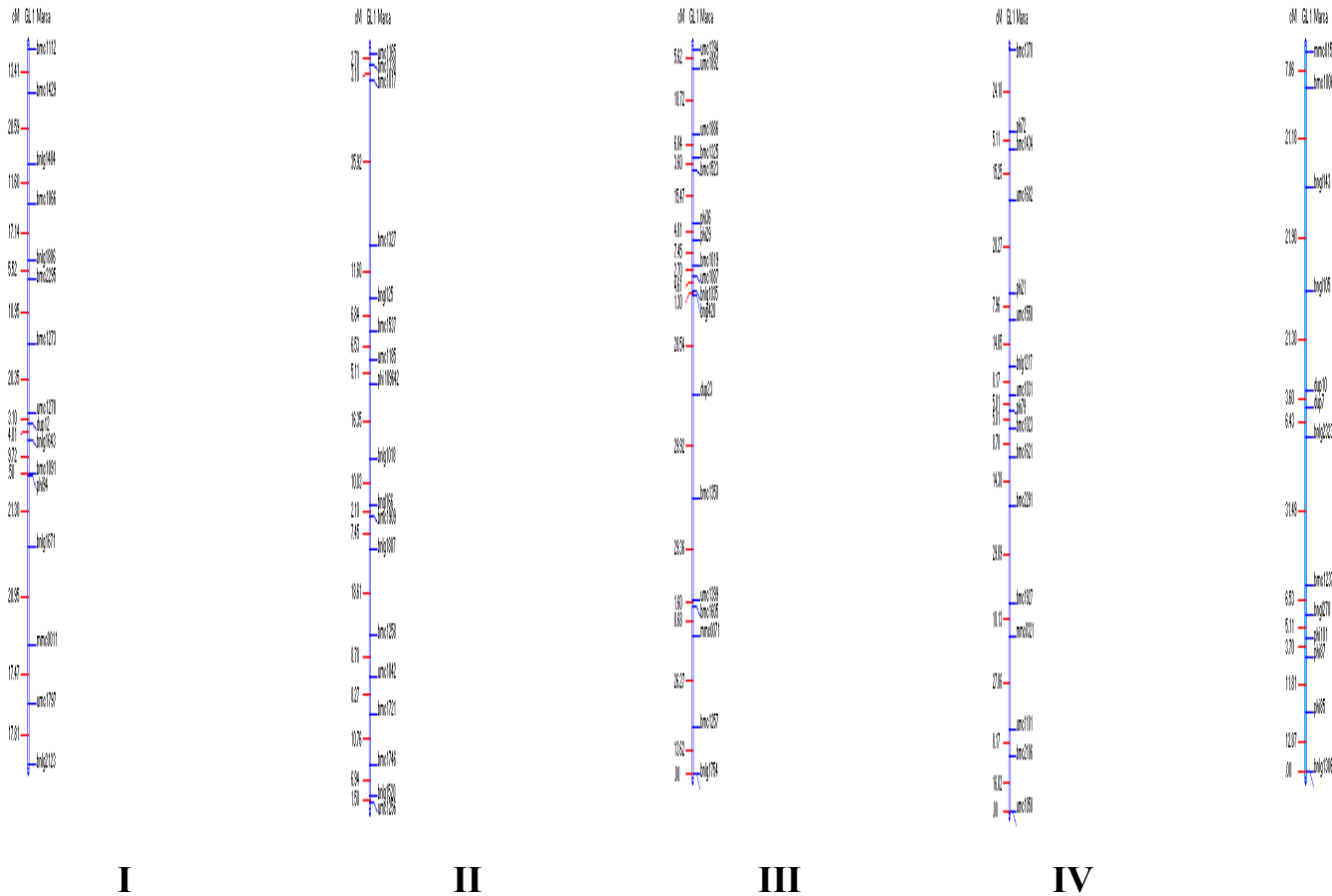
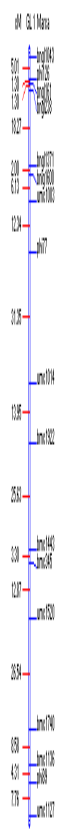
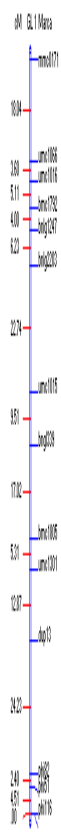


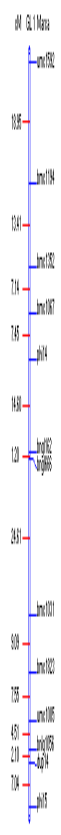
Figura. 10 Mapa de ligamiento de la población segregante de maíz F₂ SA5-HC1 X SA4-HC7 construido con 146 *primers* SSR en 220 individuos. El número del cromosoma se encuentra en la parte inferior, los nombres de los primers a la derecha, y las distancias en cM entre los marcadores a la izquierda.



VI



VII



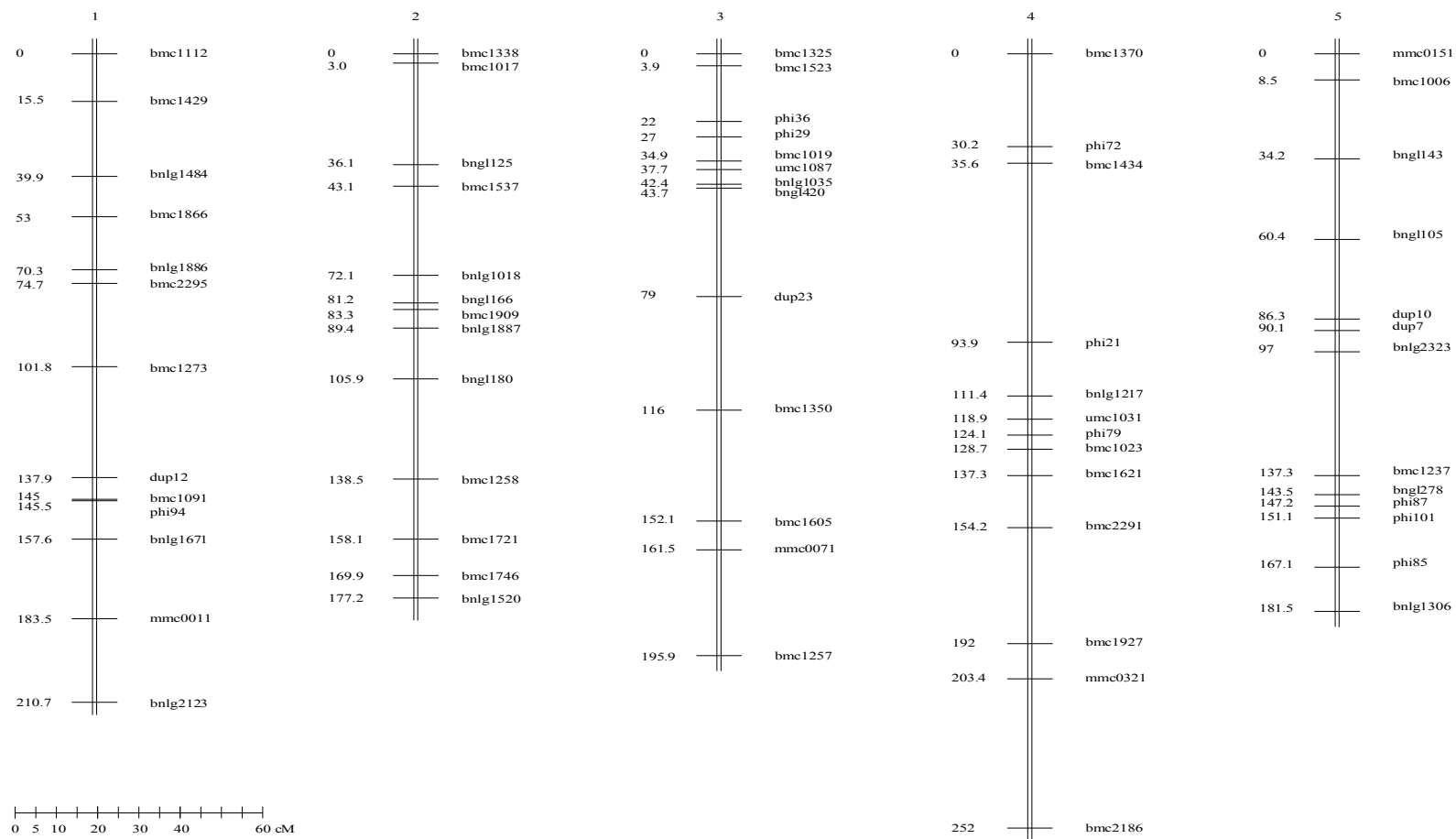


Figura. 11 Mapa de ligamiento de la población segregante de maíz F₂ SA5-HC1 xSA4-HC7 desarrollado con 118 *primers* SSR en 220 individuos (Navas 2000) El número del cromosoma se encuentra en la parte superior, los nombres de los *primers* a la derecha, y las distancias en cM entre los marcadores a la izquierda. Proporcionado por el autor del mapa. .

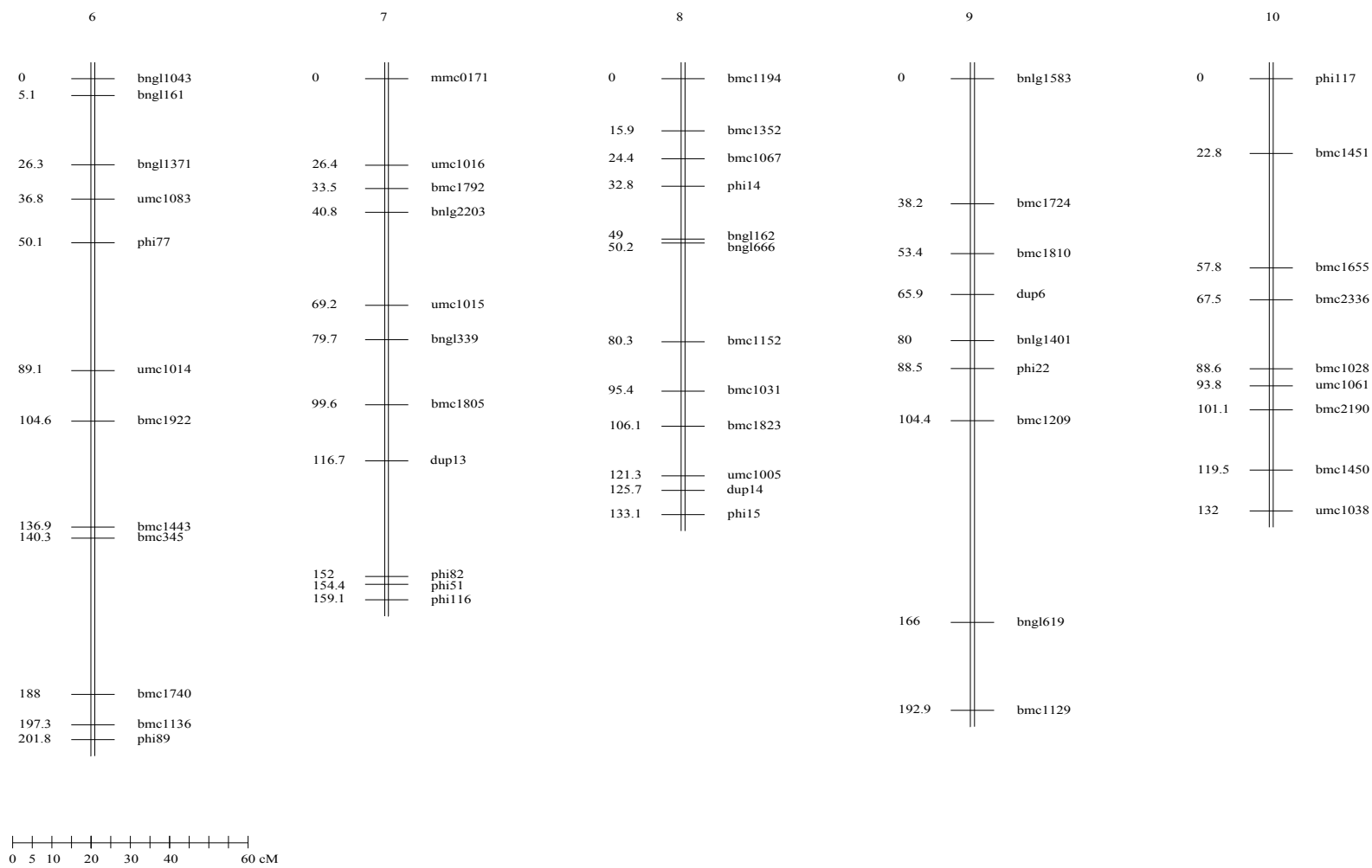


Figura. 11 Continuación.

6.6 Identificación de QTLs

La identificación de QTLs para todas las características evaluadas (VOLR, FEM, FMAS, ASI, AP, AM, PROLI y YLD) en dos ambientes ácidos de bajo (4 ppm) y alto fósforo (15 ppm,) y en el combinado de los dos ambientes todos con 65 % de saturación de aluminio, se realizó basado en el análisis de Mapeo de Intervalo Compuesto (CIM) con LOD de 2.5, tamaño de intervalo o ventana de 10 cM y usando todos los marcadores del mapa de ligamiento como cofactores se utilizó la tercera hipótesis del modelo 6 en la cual hay efectos de aditividad y de dominancia.

De esta forma fueron identificados 28 QTLs. Los QTLs con su respectiva descripción se encuentran en la Tabla 6. Nueve de estos QTLs fueron detectados a través del ambiente de LP, 8 a través del ambiente de HP y 11 a través de los dos ambientes combinados

No se detectaron QTLs para VOLR en ninguno de los ambientes. Para el ambiente de HP posiblemente porque no se presentaron diferencias significativas entre líneas (Anexo 5). Para el ambiente de LP y ambientes combinados a pesar de que las diferencias entre líneas fueron altamente significativas pudo ser debido a que las regiones cromosómicas relacionadas con esta característica también están de alguna forma relacionadas con otras variables tales como AM, YLD y PROLI (Tabla 1) donde si se detectaron QTLs en este ambiente.

Tabla 6 QTLs encontrados para todas las características morfoagronómicas evaluadas volumen radical (VOLR), floración femenina (FEM), floración masculina (FMAS), sincronía floral (ASI), altura de planta (AP), altura de mazorca (AM), prolificidad (PROLI) y rendimiento de grano (YLD) en todos los ambientes (4 ppm, 15 ppm y combinados) de fósforo.

Ambiente	Característ	Cromos	SSR	QTL (cM)	LR^a Score	Add^b Nota *	Dirección^c	Dom^d	R^{2c} (%)	
LP	AM	1	bmc 1112	01	0.00	12	2.95	P7	1.22	5.6
	AM	6	bnlg 1600	33	12.5	1.33	P7	2.6	2.3	
	AM	6	Phi 77	62	28	5.23	P7	4.07	23	
	AM	9	umc 2084	0.02	20.5	-3.83	P7	-3.28	8.7	
	AM	9	bmc 1209	92	14	2.89	P7	2.15	6.5	
LP	PROLI	1	bmc 1273	101	16.5	0.075	P7	0.027	7.4	
	YLD	1	bmc 1273	103	12.5	0.21	P7	-0.09	5.1	
	YLD	7	umc 1016	25	11.5	0.18	P7	-0.12	4.9	
	YLD	9	umc 2084	0.02	11.5	-0.21	P7	-0.038	4.8	
HP	FEM	3	phi 36	54	14	0.12	P8	-0.65	6.7	
	FEM	10	bmc14 50	121	11.5	0.41	P8	-0.194	6.5	
	ASI	3	phi 36	54	20	0.22	P8	-0.34	9.3	
	ASI	7	mmc 0171	18	14	3.62	P8	-1.22	4.3	
	AM	2	bmc 1537	63	11.6	0.36	P7	-0.24	0.13	
	AP	2	bmc15 37	62	12.5	0.95	P7	1.19	4.4	
Ambiente	Característ	Cromos	SSR	QTL (cM)	LR^a Score	Add^b Nota *	Dirección^c	Dom^d	R^{2c} (%)	
	AP	2	Phi 10964 2	70	12.5	3.49	P7	-0.42	2.1	
	AP	6	umc	89	22	5.27	P7	0.53	8.9	

			1014						
Ambientes combinados	FMAS	3	bmc 1325	33	14	0.076	P8	-0.16	0.59
	AM	9	umc20 84	0.00 01	14	-2.23	P8	-2.38	6.5
	AP	4	bmc 2291	162	23	5.62	P7	-1.54	10.8
	AP	6	umc 1014	87	15	4.29	P7	3.97	7.5
	AP	6	bmc 1922	97	15	4.61	P7	4.00	8.7
	AP	7	mmc 0171	18	17	4.37	P7	-2.99	7.5
	AP	7	umc 1016	25	23	4.90	P7	-4.099	10
	AP	7	bmc 1792	28	22	5.05	P7	-3.82	10.4
	PROLI	1	bmc 1273	103	18	0.064	P7	-0.011	7.3
	YLD	1	bmc 1273	107	11.6	0.11	P7	-0.058	2.2
	YLD	9	umc 2084	0.00 01	11.5	-0.197	P7	-0.088	5.5

^aLR score valores críticos de LR mayores o iguales al LOD = 2.5 del modelo 6 de CIM .

^b Efectos aditivos (Add). Los efectos aditivos están relacionados con el efecto de una línea susceptible. El efecto que causa reemplazar un alelo de la línea A (P7 susceptible) por la línea B (P8 tolerante) el efecto de aditividad indica de acuerdo al signo + (línea A) o - (línea B) en que valor numérico incrementa o disminuye la característica y de cual línea viene.

^c Dirección Indica el parental a seleccionar en un programa de Selección Asistida por Marcadores Moleculares MAS.

^d Efectos dominantes (Dom) indica en que valor numérico el promedio de los heterocigotos es menor (-) o mayor (+) a la media de los dos homocigotos para un determinado loci.

^e Indica qué porcentaje de la varianza fenotípica es explicado por el QTL.

Nota * La medida de los efectos de aditividad para las características son FEM en días, MAS en días, ASI en días, AP en centímetros, EH en centímetros, PROLI en número de mazorcas y YLD en t/ha.

Para la característica de ASI en los ambientes de HP y LP no se presentaron diferencias significativas entre las líneas de la población. Mientras que en ambientes combinados ASI si presentó diferencias significativas (Anexo 7). A pesar de no haber diferencias significativas en el ambiente de HP fueron detectados 2 QTLs (Tabla 6), lo cual indica que estos QTLs pueden ser dudosos. Para comprobarse la veracidad de estos QTLs tendría que volver a ser evaluada la característica de ASI en la población segregante F_{2,3} en el mismo ambiente ácido de fósforo.

En el ambiente LP fueron detectados 3 QTLs para YLD en los cromosomas 1, 7 y 9 que explican cada uno 5.0 %, 4.9 % y 4.8 % respectivamente de la varianza fenotípica total de la población bajo estudio donde los QTLs de los cromosomas 1 y 7 se ven incrementados en 0.21 y 0.18 t/ha por la línea susceptible P8 y el QTL del cromosoma 9 se ve disminuido en 0.21 t/ha por la misma línea, por lo tanto en un programa de Selección Asistida por Marcadores Moleculares MAS para los QTLs de los cromosomas 1 y 7 habría que seleccionar la línea susceptible P8, mientras que para el QTL del cromosoma 9 habría que seleccionar la línea tolerante P7.

Para el ambiente HP no se encontraron QTLs asociados con la característica de YLD. Para la combinación de ambientes se hallaron 2 QTLs relacionados con la característica de YLD. Estos QTLs explican cada uno 2.2% y 5.5 % respectivamente del total de la varianza fenotípica para este rasgo agronómico (Tabla 6).

Los QTLs de YLD para ambientes combinados ubicados en los cromosomas 1 y 9, son los mismos QTLs encontrados en el ambiente de bajo fósforo, ya que los QTLs para la característica de rendimiento de grano en los dos ambientes están relacionados con los marcadores moleculares *bmc 1273* y *umc 2084*. El marcador *bmc 1273* se encuentra ligado a la región genómica del cromosoma 1 relacionada con la característica de YLD, en el ambiente LP. Este QTL presentó un LR de 12.5, un R^2 5.1 %, un efecto de aditividad de 0.21 t ha⁻¹ y un efecto de dominancia de -0.09 t ha⁻¹.

Navas (2000) también identificó un QTL para YLD en la misma región del *primer bmc 1273* para dos ambientes uno en Villavicencio con 55 % de saturación de aluminio (V55) y otros de la combinación de suelos ácidos de Villavicencio con 55 %, villavicencio con 65 % y Ayapel con 65 % de saturación de aluminio (COM AS). En el ambiente de V55, Navas (2000) detectó un QTL que registró un LR de 13.27 un R^2 de 8 %, un efecto de aditividad de 0.05 t ha⁻¹ y un efecto de dominancia de -0.18 t ha⁻¹, y para los ambientes de COM AS, identificó un QTL en la misma región con LR de 19.43, R^2 7%, efecto de aditividad de 0.04 y efecto de dominancia de 0.02.

Respecto a los efectos de aditividad de los QTLs identificados tanto en el estudio de Navas (2000) como en el presente trabajo, solo se registró un valor negativo que reduce el valor numérico de la característica de YLD asociado al QTL del cromosoma 9 que se encuentra ligado al marcador *umc 2084*, para los demás QTLs relacionados con YLD la línea susceptible P8 incrementa el valor numérico de la misma. Por lo tanto, la línea susceptible P8 sería la línea que habría que seleccionar para aumentar el potencial de rendimiento de grano.

Con base en los resultados de la característica de YLD obtenidos en el presente estudio y los registrados por Navas (2000), los QTLs se superponen entre sí, es decir, siguen siendo constantes cuando son probados en diferentes ambientes.

El objetivo del presente estudio fue identificar regiones del genoma que codificaran para características relacionadas con fósforo y de esta forma aproximarse a la característica final de rendimiento. Si es posible seleccionar directamente sobre la característica de rendimiento de grano YLD, la obtención de materiales más productivos, en términos de rendimiento de grano, sería eficiente. Lo anterior es apoyado por los QTLs identificados en el presente estudio y los detectados por Navas (2000), los cuales evidencian que existe una gran tendencia a que esta región este codificando para la característica de rendimiento en ambientes ácidos, con bajas concentraciones de fósforo y altos niveles de aluminio.

La importancia de los resultados obtenidos por Ortiz (2002) y Navas (2000) para la característica de rendimiento de grano YLD, radica en que los resultados de estos estudios se estarían aproximando simultáneamente a dos factores que resultan ser limitantes para la producción del cultivo de maíz en la región de la Altillanura Colombiana, como son la toxicidad por aluminio y el bajo contenido de fósforo. De esta forma, es posible dirigir la selección hacia dos componentes de los suelos ácidos al mismo tiempo.

Para la característica de altura de planta (AP) en el ambiente HP se encontraron 3 QTLs en los cromosomas 2 y 6, estos QTLs explican cada uno 4.4 %, 2.1 % y 8.9 % del total del total de la varianza fenotípica de esta variable en este ambiente. Navas (2000) encontró 11 QTLs para esta característica en los ambientes de Palmira (PAL) y Turipaná (TUR) (suelos normales), Villavicencio con 65 % de saturación de aluminio (V65), Ayapel con 65 % de saturación de aluminio (AYA65), combinación de ambientes ácidos (COM AS) y combinación de ambientes normales (COM NS). De estos QTLs solo uno de ellos encontrado en COM.NS fue el mismo encontrado en el presente estudio en HP que se encuentra ligado al marcador *umc 1014* en el cromosoma VI.

El marcador *bnlg 125* se encuentra ligado a la región genómica del cromosoma 2 detectada para por Navas (2000) en (COM. NS). Consistentemente en este estudio fue detectado en el ambiente HP un QTL para la característica de altura de planta (AP) que se encuentra relacionado con el *primer bmc 1537*, el cual está ubicado a una distancia de 6.84 cM del marcador *bnlg 125*.

La característica altura de planta (AP) en ambientes combinados registró estar explicada por 6 QTLs ubicados en los cromosomas 4,6 y 7. De acuerdo con lo anterior en diferentes zonas de estos cromosomas existen regiones que están relacionadas con la característica de altura de planta (AP) en ambientes combinados. Para el ambiente LP no se encontraron regiones genómicas relacionadas con altura de planta (AP) pero fueron identificados 5 QTLs relacionados con AM en los cromosomas 1, 6 y 9.

En el ambiente de HP se detectó un QTL para AM en el cromosoma 2 y un QTL en el cromosoma 9 para la misma característica en ambientes combinados, estos QTLs explican cerca del 0.13 % y 6.5 % respectivamente del total de la varianza fenotípica. La región genómica del cromosoma 2 se encuentra relacionada con el marcador *bmc 1537* el cual también está ligado a un QTL para la misma característica encontrado

por Navas (2000) bajo el ambiente de PAL que explica cerca del 7 % de la varianza fenotípica.

El QTL para el rasgo agronómico de AM identificado por Navas (2000) en el cromosoma 2, es consistente con el encontrado en el presente estudio teniendo en cuenta que estas regiones del genoma fueron identificadas en ambientes de fósforo normal. Navas (2000) también detectó QTLs para esta característica en los ambientes ácidos en los cromosomas 6, y 9 al igual que en el presente estudio también se encontraron regiones genómicas de esta característica para el ambiente de bajo fósforo y ambientes combinados en los cromosomas, 6 y 9 pero no registran estar relacionadas con los mismos marcadores moleculares.

El registro consistente de la ubicación del QTL identificado por Navas (2000) y el identificado en el presente estudio para el rasgo agronómico de AP, bajo ambientes donde no hay estrés por fósforo, podría indicar que las plantas posiblemente dirigen su energía en mayor medida, hacia el crecimiento vegetativo que hacia el rendimiento de grano en un ambiente donde las fuentes de fósforo son adecuadas. Mientras que en un ambiente de estrés por fósforo las plantas emplean mas su energía en optimizar las características relacionadas con rendimiento.

Para la característica de PROLI también correlacionada directamente con rendimiento (< 0.0001) (Tabla 1), debido a que es uno de los componentes de rendimiento de grano, se encontró un QTL relacionado con el marcador *bmc 1273* en el cromosoma 1 para el ambiente de LP que explica el 7.4 % del total de la varianza fenotípica, mientras que para el ambiente de alto fósforo no se registró QTLs asociados con esta característica.

Como se puede observar en la Tabla 6 el marcador *bmc 1273* del cromosoma 1 se encuentra relacionado con la característica tanto de YLD como con la de PROLI. Lo

anterior puede indicar que esa región aporta en cierta medida un porcentaje para el resultado final de rendimiento de grano en un ambiente de estrés por fósforo.

Navas (2000) identificó una región genómica en el cromosoma 1 para PROLI en el ambiente ácido de AYA 65% y una región genómica en el mismo cromosoma para la misma característica en los ambientes combinados COM. AS. Los dos QTLs están asociados con el marcador *dup 12* que se encuentra a una distancia de 23.45 cM del marcador *bmc 1273* relacionado con el QTL identificado para la característica de PROLI en el presente estudio. Estos QTLs están próximos entre sí, así como con los relacionados con YLD anteriormente mencionados. Los resultados evidencian una tendencia coincidente en la ubicación de los QTLs de YLD y los de PROLI posiblemente por la correlación que existe entre estas características (< 0.0001). También se evidencia la constante aparición de estos QTLs a través de cuatro ambientes ácidos. La distribución de frecuencias de los genotipos de la población $F_{2:3}$ para estas características también mostraron de alguna manera una relación ya que los genotipos con valores mas altos para YLD también registraron los valores mas altos para PROLI.

Para la distribución de los genotipos de la población $F_{2:3}$ anteriormente descritos existe la misma tendencia de emplear la energía en el crecimiento vegetativo en ambientes de alto fósforo y en ambientes de bajo fósforo invertir la energía en optimizar las características de rendimiento. Como es el caso del genotipo 2 en el ambiente de LP que a pesar de distinguirse por alcanzar el mayor valor para la característica YLD con 4.1 t/ha, aún mayor que en el ambiente de fósforo normal, también alcanzó los mayores valores para VOLR con 38.23 nF, PROLI con 1.04 y AM con 66.68 cm .

Para la característica de FEM solo se encontraron QTLs en el ambiente de HP, dos regiones genómicas de los cromosomas 3 y 10. explican el 6.7 % y 6.5 % respectivamente del total de la varianza fenotípica de esta variable. Para FEM Navas

(2000) también detectó un QTL en el cromosoma 3 con LR de 12.73 y R^2 de 7 % relacionado con el marcador *bmc 1523* para el ambiente normal TUR. En el presente estudio el QTL del cromosoma 3 registró un LR de 14 y un R^2 de 6.7% y se encuentra relacionado con el marcador *phi 36* el cual está ubicado a una distancia de 15.47 cM del marcador *bmc 1523* donde Navas (2000) encontró el QTL para la característica FEM (Figura 10).

Con base en estos dos estudios estos QTLs de alguna forma cercanos en el mismo cromosoma se han mantenido constantes en la ubicación del cromosoma bajo ambientes de fósforo normal. Esto puede ser una aproximación a una región genómica que aporte cierto valor a la expresión final de la característica de FEM.

En cuanto a FMAS se encontró un QTL relacionado con el microsatélite *bmc 1325* en el cromosoma 3 para ambientes combinados pero no explica más del 1% del total la varianza fenotípica. Navas (2000) encontró 4 regiones genómicas del cromosoma 3 relacionadas con esta característica, una de ellas explica el 10 % del total de la varianza fenotípica para el ambiente normal de PAL relacionada con el marcador *phi 29* que está ubicado a una distancia de 23.88 cM del primer *bmc 1325* (Figura 11).

En el ambiente HP la característica de ASI presentó 2 regiones genómicas en los cromosomas 3 y 7 donde cada región explica el 9.3 % y 4.3 % del total de la varianza fenotípica. En el ambiente de LP no se encontraron regiones del genoma relacionadas con ASI posiblemente porque no se encontraron diferencias significativas entre las líneas (Anexo 6).

La no-identificación de QTLs para ASI en el ambiente de bajo fósforo, también puede ser debido a que en condiciones de estrés por este elemento, la asincronía floral se incrementa porque las funciones metabólicas de las plantas se ven retrasadas como consecuencia de que el fósforo está involucrado en el control de reacciones enzimáticas claves en la regulación de rutas metabólicas y hace parte de moléculas

fundamentales tales como ácidos nucleicos, fosfolípidos, y ATP (Schachtman *et al.*, 1998). Así mismo, el fósforo al ser un componente importante de ácidos nucleicos, fosfolípidos y ATP, juega también un papel muy importante en la reproducción, y cuando no hay una fuente adecuada de este elemento se ve afectada la aparición y desarrollo de la espiga y de la panoja de la planta de maíz, por lo tanto, además de que el estrés por sequía incrementa la discordancia entre la floración masculina y femenina, como previamente demostraron Herrero y Johnson (1981), el estrés por fósforo también puede generar desordenes en los tiempos de aparición de los órganos reproductivos femeninos y masculinos dentro de la planta lo que puede ser explicado por la correlación que existe entre FEM y FMAS (Tabla 1).

7 CONCLUSIONES

Según los resultados obtenidos en el presente estudio se puede concluir que:

El mapa de ligamiento de la población segregante de maíz F₂ SA5-HC1-1-5-1-1-1-7 x SA4-HC7-1-4-1-2-11-1 generado con 146 marcadores microsatélites redujo la

longitud del mapa original de Navas (2000) inicialmente creado con 118 marcadores microsatélites de 1836.2 cM a 1645.7cM.

La varianza fenotípica para la característica de AP en la población de maíz $F_{2:3}$ SA5-HC1-1-5-1-1-1-7 x SA4-HC7-1-4-1-2-11-1 en la combinación de ambientes ácidos de 4 y 15 ppm de fósforo y una saturación de aluminio del 65%, es explicada por 6 QTLs putativos ubicados en los cromosomas 4, 6 y 7, estos QTLs están relacionados con los marcadores *bmc 2291*, *umc 1014*, *bmc 1922*, *mmc 0171*, *umc 1016* y *bmc 1792*.

En el ambiente ácido con bajas concentraciones de fósforo y una saturación de aluminio del 65% de Puerto López, la varianza fenotípica de la característica de rendimiento para la población de maíz $F_{2:3}$ SA5-HC1-1-5-1-1-1-7 x SA4-HC7-1-4-1-2-11-1, puede ser explicada por 3 QTLs relacionados con los marcadores *bmc 1273*, *umc 1016* y *umc 2084* en los cromosomas 1, 7 y 9.

Los QTLs relacionados con los rasgos de rendimiento de grano (YLD) y prolificidad (PROLI) para la población segregante de maíz $F_{2:3}$ SA5-HC1-1-5-1-1-1-7 x SA4-HC7-1-4-1-2-11-1 coinciden al ser probados en los suelos ácidos de Puerto López con 65 % de saturación de aluminio y 4 ppm de concentración de fósforo (Ortiz, 2002), Villavicencio con 55 % de saturación de aluminio y para los ambientes combinados de Villavicencio con 55 % y 65 % de saturación de aluminio (Navas, 2000).

Los QTLs identificados en el presente estudio bajo los ambientes de fósforo de 4 y 15 ppm, los dos con una saturación de aluminio del 65%, se superponen o están en regiones muy cercanas a los QTLs detectados por Navas (2000) en los suelos normales de Palmira y Turipaná y los suelos ácidos de Ayapel con 65 % y Villavicencio con 55 % y 65% de saturación de aluminio, para las características morfoagronómicas de floración femenina (FEM), floración masculina (FMAS),

sincronía floral (ASI), altura de planta (AP), altura de mazorca (AM), prolificidad (PROLI) y rendimiento de grano (YLD), lo cual podría indicar que los QTLs identificados por Navas (2000) y Ortiz (2002) evidencian una posible aproximación a las regiones del genoma relacionadas con dichas variables morfoagronómicas en la población de maíz F_{2:3} SA5-HC1-1-5-1-1-1-7 x SA4-HC7-1-4-1-2-11-1

Las características de volumen radical (VOLR) floración femenina (FEM), floración masculina (FMAS), sincronía floral (ASI), altura de planta (AP), altura de mazorca (AM) prolificidad (PROLI) y rendimiento de grano (YLD) excepto por VOLR – ASI están correlacionadas entre sí en el ambiente de bajo fósforo (LP), por lo tanto es posible que para ambientes de estrés por fósforo la planta integre los sistemas que están involucrados con cada una de las características morfoagronómicas evaluadas.

En el ambiente de alto fósforo (HP) las características VOLR – FEM, VOLR – PROLI, VOLR – YLD, FMAS – AM, FMAS – PROLI, FMAS – YLD, ASI – AP, PROLI– AP, PROLI – EH no se encuentran correlacionadas, por lo cual es posible que en ambientes con fuentes adecuadas de fósforo la planta desarrolle cada una de estas características agronómicas de forma independiente.

La característica morfoagronómica VOLR no presentó diferencias significativas entre las familias de la población posiblemente por falta de sensibilidad del capacitómetro, y tal vez debido a que no se registraron diferencias significativas dentro de las familias de la población para VOLR, tampoco fueron detectados QTLs para la misma característica.

8 RECOMENDACIONES

Analizar conjuntamente los QTLs encontrados por Ortiz (2002), Navas (2000) con otros estudios que se realicen en otros ambientes combinados de toxicidad por aluminio y diferentes concentraciones de fósforo para las características morfoagronómicas relacionadas con tolerancia a suelos ácidos y eficiencia en la toma de fósforo en la población segregante de maíz $F_{2,3}$ SA5-HC1-1-5-1-1-1-7 x SA4-HC7-1-4-1-2-11-1 para identificar nuevos QTLs relacionados con estas características y para tener una aproximación de la magnitud de la varianza ambiental en la heredabilidad de los QTLs ya identificados.

Evaluar en campo otras posibles características relacionadas con la expresión de la nutrición de fósforo tales como área foliar, contenido de fósforo foliar, etc. Puesto que por medio de estas variables es posible no solo seleccionar materiales eficientes en la asimilación de fósforo si no materiales eficientes en translocación en términos de rendimiento de grano. De esta forma sería posible diferenciar la base genética de rendimiento de grano por medio de la identificación de QTLs.

Evaluar en la población $F_{2,3}$ de maíz el efecto de los hongos micorrízicos arbusculados HMA en los rasgos morfoagronómicos relacionados con fósforo tales como volumen radical, acumulación de materia seca y porcentaje de colonización en las raíces por micorrizas por medio de un sistema de arena-albúmina que contenga micorrizas y otro sistema de arena-albúmina que no contenga micorrizas todo esto bajo condiciones de invernadero para identificar posibles QTLs relacionados con el asocio de hongos micorrízicos arbusculados HMA ya que esta simbiosis favorece en gran medida la extracción de fósforo del suelo.

Los genotipos 2 y 195 de la población $F_{2,3}$ que fueron altamente productivos en los ambientes de alto y bajo fósforo y en ambientes combinados podrían ser utilizados en un programa de Mejoramiento Asistido por Marcadores Moleculares aplicado a los suelos ácidos de la región de la Altillanura Colombiana.

Incluir en genotipos de maíz élite las regiones genómicas de los cromosomas 1, 7 y 9 cercanas a los marcadores *bmc 1273*, *umc 1016* y *umc 2084* relacionadas con la característica de rendimiento de grano en un ambiente de bajo fósforo, así como las regiones genómicas de los cromosomas 4, 6 y 7 cercanas a los marcadores *bmc 2291*, *umc 1014*, *bmc 1922*, *mmc 017*, *umc 1019* y *bmc 1792* relacionadas con la característica de altura de planta.

9 LITERATURA CITADA

- 1 Alves, V.M.C., Parentoni, S.N., Vasconcellos, C.A., Pitta, G.V.E., Franca De Moura, C.C. 2002. Cinética de absorção de fósforo e crescimento do sistema

- radicular de genótipos de milho contrastantes para eficiência a fósforo. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*. 1 (1): 86-93.
- 2 Alves, V.M.C., Parentoni, C. A., Vasconcellos, A. F. C., Bahia Filho, G. V. E, Pitta and R. E. Schaffert. 2001. Mechanisms of phosphorus efficiency in maize. *Plant nutrition*. 566-567.
 - 3 Baligar, V. C & Fageria, N. K. 1997. Nutrient use efficiency in acid soils: nutrient management and plant use efficiency. *Plant-Soil Interactions at low pH*. 75 – 95.
 - 4 Basten, C. J., Weir, B. S., Zeng, Z-B. 2002. QTL Cartographer A Reference Manual and Tutorial for QTL Mapping. North Carolina State University. Department of Statistics. Bioinformatics Research Center. Program in Statistical Genetics. United States of America. 177 p.
 - 5 Beem, J. V., Smith, M. E., Zobel, R.W. 1998. Estimating Root Mass in Maize Using a Portable Capacitance Meter. *Agronomy Journal*. 90: 566-570.
 - 6 Bernal, J. 2002. Corpoica. *Comunicación personal*. jh.bernal@villavicencio.cetcol.net.co.
 - 7 Bhadoria, P.B.S., Singh, S., Claassen, N. 2001. Phosphorus efficiency of Wheat, Maize and Groundnut Grown in Low Phosphorus-Supplying Soil. *Plant Nutrition*. 530-531.
 - 8 Bucher, M; Rausch, Christine; Daram, P. 2001. Molecular and biochemical mechanisms of phosphorus uptake into plants. *Plant Nutrition*. 164: 209-217.
 - 9 CIMMYT. 1996. Molecular Marker Applications to Plant Breeding. Applied Molecular Genetics Laboratory. El Batán, México. 118 p.

- 10 CIMMYT. 1997. El CIMMYT rumbo a una solución tecnológica de la toxicidad por Aluminio. Informe anual.
- 11 Daram, P., Brunner, S., Rausch, C., Steiner, C., Amrhein, N., and Bucher, M. 1999. Pht2., 1 encodes a low-affinity phosphate transporter from *Arabidopsis*. *Plant Cell* 11: 2153-2166.
- 12 Darvasi, A., Weinreb, A., Minke, V., Weller, J. I and Soller, M. 1993. Detecting Marker-QTL Linkage and Estimating QTL Gene Effect and Map Location Using a Saturated Genetic Map. *Genetics*. 134: 943-951.
- 13 De León, C., Narro, L., Torres, L. G., Guerrero, S. C. 2001. Híbrido de maíz amarillo Corpoica Altillanura H- 111. Plegable divulgativo. No 24.
- 14 De León, C. 2002. Sostenibilidad, clave para desarrollar el cultivo del maíz. IV Reunión Latinoamericana de Investigadores en Maíz. Programa Suramericano de Maíz, Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). CIAT, Cali, Colombia. Corpoica Regional 2. Plegable divulgativo.
- 15 de Miranda, L. N & Rowell, D. L. 1987. The effects of lime and phosphorus on the phosphorus on the function of wheat roots in acid topsoil and subsoils. *Plant Soil*. 104: 253-262.
- 16 Edwards, M. D., Stuber, C. W and Wendel, J. F. 1987. Molecular-Marker-Facilitated Investigations of Quantitative-Trait Loci in Maize. I. Numbers, Genomic Distribution and Types of Gene Action. *Genetics*. 116: 113-125.
- 17 Eswaran, H., Reich, P and Beinroth, F. 1997. Global distribution of soils with acidity. *Plant-Soil Interactions at Low pH*, 159-164.

- 18** Ferreira, M. E & Grattapaglia, D. 1998. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. Brasília: Embrapa-Cenargen. pp 37.
- 19** Flores, G., Torres, J.L., González, G., Rincón, J.A. 2001. Eficiencia de uso de fósforo en Triticale y trigo en dos suelos con diferente capacidad de fijación de fósforo. *Terra*. 19: 47-54.
- 20** Foy, C. D., Sadeghi, A. M., Ritchie, J. C., Krizek, D. T., Davis, J. R and Kemper, W. D. 1994. *J. Plant. Nutrition*. 22: 1551-1566
- 21** Frisch, M., Bohn, M. and Melchinger, A. E. 1998. Markerdichte und Anzahl benötigter Markeranalysen in markergestützten Rückkreuzungs-programmen. *Vorträge fr Pflanzenzüchtung*. 42:1-3.
- 22** Frisch, M., Bohn, M. and Melchinger, A. E. 1999. Comparison of Selection Strategies for Marker-Assisted Backcrossing of a Gene. *Crop Science*. 90: 1295-1301.
- 23** Gaume, A., Mächler, F., De León, C., Narro, L., Frossard, E. 2000. Low P-Tolerance by Maize (*Zea mays* L.) genotypes: Significance of root growth, and organic acids and phosphatase root exudation. *Tesis doctoral*.
- 24** Gaume, A., Mächler, F & Frossard, E. 2001. Aluminium resistance in two cultivars of *Zea mays* L.: Root exudation of organic acids and influence of phosphorus nutrition. *Plant and Soil*. 234: 73-81.
- 25** Gómez, P. L. 2000. Ceniavances. Cenipalma. Boletín divulgativo. No 68.

- 26** Grant, A.C., Flaten, N. D., Tomasiewicz, J. D., Sheppard, C. S., 2001. Importancia de la nutrición temprana con fósforo. *Informaciones Agronómicas*. No. 44.
- 27** Gutierrez, A. 2002. Corpoica. Programa Nacional de Recursos Genéticos y Biotecnología Vegetal. *Comunicación personal*.
- 28** Herrero, H.P & Johnson, R. R. 1981. Drought stress and its effects on maize reproductive systems. *Crop Science*. 21: 105-110.
- 29** Hoisington, D.A., Khairallah, M., D. Gonzalez -de- León. 1994. Laboratory protocols: CIMMYT Applied Molecular Genetics Laboratory. CIMMYT. Mexico, D.F.
- 30** Kaeppler, S. M., Parke, J. L., Mueller, S. M., Senior, L., Stuber, Ch., Tracy, W. F.2000. Variation among Maize Inbred Lines and Detection of Quantitative Traits Loci for Growth at Low Phosphorus and Responsiveness to Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Crop Science*. 40: 358-364.
- 31** Klung, W. S., Cummings, M. R. 1999. *Essentials of Genetics*. Prentice-Hall, Inc. United States of America. 567 p.
- 32** Lander, E. S. & D. Bostein. 1989. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics*. 121: 185-199.
- 33** Liu, C., Muchhal U S., Uthappa, M., Kononowicz, A K and Raghothama, K G. 1998. Tomato phosphate transporter genes are differentially regulated in plant tissues by phosphorus. *Plant Physiology*. 116: 91-99.

- 34** Llanos Company, Moller & Birkhead. 1984. El maíz su cultivo y aprovechamiento. Ed. Mundiprensa, Castelló. Madrid (España). 318 p.
- 35** Magnavaca, R. 1982. Genetic variability and the inheritance of aluminum tolerance in maize (*Zea mays* L.). *Tesis doctoral*.
- 36** Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of Higher Plants. Academic Press. San Diego, CA. 889 P.
- 37** Martin, B., Nienhuis, J., King, G., Schaefer, A. 1989. Restriction fragment length polymorphisms associated with water use efficiency in tomato. *Science*. 243: 1725-1728.
- 38** Meng, X. & Rubin, D. 1993. Maximum likelihood estimation via the ECM algorithm: A general framework. *Biometrika*. 80: 267-268.
- 39** Mian, M. A. R., Bailey, M. A., Ashley, D. A. Wells, R., Carter, T. E., Parrot, W. A., Boerma, H. R. 1996. Molecular markers associated with water use efficiency and leaf ash in soybean. *Crop Science*. 36: 1252-1257.
- 40** Muchhal U S. Pardo J M and Reghothama K G. 1996. Phosphate transporters from the higher plant *Arabidopsis thaliana*. *Proceeding National Academic Science*. USA. 93: 10519-10523.
- 41** Muchhal U S & Reghothama K G. 1999. Transcriptional regulation of plant phosphate transporters. *Proceeding National Academic Science* USA. 96: 5868-5872.

- 42 Navas. A. 2000. Molecular studies for linkage analysis and determination of quantitative trait loci (QTL) for acid soil tolerance in maize (*Zea mays L.*). *Tesis doctoral*. Universidad del estado de Iowa. 60p.
- 43 Navas, A. 2002. Corpoica. Programa Nacional de Recursos Genéticos y Biotecnología Vegetal. *Comunicación personal*.
- 44 Nienhuis, J., Helentjaris, T., Slocum, M., Ruggeto, B., Schaefer, A. 1987. Restriction fragment length polymorphism analysis of loci associated with insect resistance in tomato. *Crop Science*. 27: 797-803.
- 45 Openshaw, S. J., Jarboe, S. G and Beavis, W. D. 1994. Marker-assisted selection in backcross breeding. *In* Proceeding of the Symposium “Analysis of Molecular Marker Data”, Corvallis, OR. 5-6 Aug. 1994. Am. Soc. Hortic. Sci. And Crop Sci. Soc. Am.
- 46 Ortiz, R. A. 2002. Detección de nuevos QTLs relacionados con la eficiencia en la toma de fósforo en una población segregante de Maíz F_{2:3} (*Zea mays L.*) tolerante a suelos ácidos en la Altillanura Colombiana. *Tesis de pregrado*. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias Básicas. Departamento de Biología. Bogotá, Colombia. 101 p.
- 47 Ospina J.G. 1999. Tecnología del cultivo del maíz. Primera edición. Produmedios. Bogotá. 335 p.
- 48 Pellerin, S & Mollier, A. 2001. How to include mineral nutrition in crop growth models? The example of phosphorus on maize. *Plant Nutrition*. 110-111.

- 49** Paterson, A. H. Lander, E. S., Hewitt, J. D., Paterson, S., Lincoln, S. E., Tanksley, S. D. 1988. Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete RFLP linkage map. *Nature*. 335:721-726.
- 50** Quarrie, Steve A., Lazic-Jancic, Vesna., Kovacevic, Dragan., Steed, Andy and Pekic, Sofija. 1999. Bulk segregant analysis with molecular markers and its use for improving drought resistance in maize. *Journal of Experimental Botany*. 50 (337): 1299-1306.
- 51** Reiter, R. S., Coors, J. G., Sussman, M. R and Gabelman, W. H. 1991. Genetic analysis of tolerance to low-phosphorus stress in maize using restriction fragment length polymorphisms. *Theoretical Applied Genetics*. 82: 561- 568.
- 52** Ribaut, J. M., Hoisington, D. A., Deutsch, J. A., Jiang, C., 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: 905 – 914.
- 53** Roveda-Hoyos, G., Chopart, J. L., Baquero, J. E., Rojas, L. A., Dingkuhn. 2001. Modeling for growth and distribution of maize (*Zea mays* L.) roots under field conditions in the eastern plains of Colombia. *Plant nutrition*. 576-577.
- 54** Saghai-Maroo, M. A., Soliman, K. M., Jorgensen, R. A., Allard, R. W. 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proceeding National Academic Science USA*. 81: 8014 – 8018.
- 55** Schachtman, D. P., Reid, R. J and Ayling, S. M. 1998. Phosphorus Uptake by Plants: From Soil to Cell. *Plant Physiology*. 116: 447-453.

- 56** Senior, M.L., Chin, E.C.L., Lee, M., Smith, J.S.C and Stuber, C.W. 1996. Simple Sequence Repeat Markers developed from maize sequences found in the database: Map Construction. *Crop Science*. 36: 1676-1683.
- 57** Smith, F W., Ealing P M., Dong B and Delhaize, E. 1997. The cloning of two *Arabidopsis* genes belonging to a phosphate transporter family. *Plant Journal*. 11: 83-92.
- 58** Smith, F. 2001. Sulphur and phosphorus transport systems in plants. *Plant and Soil*. 232: 109-118.
- 59** Stuber, Ch. W., Polacco, M., Senior, M. L. 1999. Synergy of Empirical Breeding, Market-Assisted Selection, and Genomics to Increase Crop Yield Potential. *Crop Science*. 39: 1571-1583.
- 60** Taiz, Z. 1998. Plant Physiology. Second edition. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts. 792 p.
- 61** Thumma, B. R., Naidu, B. P., Cameron, D. F., Bahnisch, L. M. 1998. Transpiration efficiency and its relationship with carbon isotope discrimination under well-watered and water-stressed conditions in *Stylosanthes scabra*. *Australian Journal of Agricultural Research*. 49: 1039-1045.
- 62** Thumma, B. R., Naidu, B. P., Chandra, A., Cameron, D. F., Bahnisch, L. M and Lui, C. 2001. Identification of casual relationships among traits related to drought resistance in *Stylosanthes scabra* using QTL analysis. *Journal of Experimental Botany*. 52 (355): 203-214.
- 63** Quarrie, A S., Lazic-Jancic, Vesna., Kovacevic, D., Steed, A and Pekic, S. 1999. Bulk segregant analysis with molecular markers and its use for improving drought resistance in maize. *Journal of Experimental Botany*. 50 (337): 1299-1306.

- 64 Visscher, P. M., Haley, C. S and Thompson, R. 1996. Marker-assisted introgression in backcross breeding programs. *Genetics*. 144: 1923-1932.
- 65 Westman, A. L & Kresovich, S. 1997. Use of molecular marker techniques for description of plant genetic variation. In: Callow, J. A., Ford-Lloyd, J. A. and Newbury, H.J (eds), *Biotechnology and Plant Genetic Resources: Conservation and Use*. CAB International, Oxford, UK. pp. 9-48.
- 66 Wissuwa, M. & Ae, N. 2001. Confirmation and characterization of a major QTL for P uptake in rice. *Plant nutrition – Food security and sustainability of agroecosystems*. 22-23.
- 67 Xiaolong, Yan., Stephen, E Beebe and Jonathan, P Lynch. 1995. Genetic variation for phosphorus efficiency of common bean in contrasting soil types: II. Yield Response. *Crop Science*. 35: 1094-1099.
- 68 Young, N. D. 1994. Constructing a plant genetic linkage map with DNA markers. *DNA-Based Markers in Plants*. 1: 39-57.
- 69 Zeng, Z. 1993. Theoretical basis for separation of multiple linked gene effects in mapping quantitative trait loci. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 10972-10976.
- 70 Zeng, Z. 1994. Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics* 136: 1457-1468.

9.1 Recursos Electrónicos

- 71 DB Maize. 2002. [en línea]. Public SSR's Simple Sequence Repeats, aka Microsatellites. <http://www.agron.missouri.edu>. [Consulta: 15 feb. 2002].

- 72 CIMMYT. 2001. Maize in the Developing World **[en línea]**. Informe Anual. México 2001. www.cimmyt.cgiar.org. [Consulta: 21 dic. 2001].
- 73 FAO. 2002. Agriculture data **[en línea]**. For information on the source of FAO statistical data. <http://www.fao.org>. [Consulta: 15 sept. 2002].
- 74 FENALCE. 2002. **[en línea]**. Colombia. Web desarrollado por Carlos Daniel Rivera García. <http://www.fenalce.org>. [Consulta: 23 abr. 2002].
- 75 Forbes, H. 2000. **[en línea]**. Molecular Breeding: Mining for QTL's. <http://www.artsci.wustl.edu/jstader/heather.m.felton@monsanto.com>. [Consulta: 3 feb. 2002].
- 76 Todomaiz. 2002. **[en línea]**. Area sembrada – rendimiento y producción de maíz en Colombia. <http://www.todomaiz.com>. [Consulta: 9 ene. 2002].
- 77 Todomaiz. 2002 **[en línea]**. Consumo aparente y per cápita de cereales en Colombia. <http://www.todomaiz.com>. [Consulta: 9 ene. 2002].

10 ANEXOS

ANEXO 1. Concentración y volumen de los componentes de la reacción de PCR, para amplificación de los microsátélites, basado en los procedimientos descritos por Hoisington *et al.*, 1994.

STOCK	CONCENTRACIÓN FINAL	REACCIÓN 20 ul
Agua destilada, desionizada y autoclavada.	-	2.6
Taq Buffer (10X)	1X	2.0
MgCl ₂ (50 mM)	2.5 mM	2.0
dNTP MIX (2.5 Mm cada uno)	150 uM cada uno	1.2
Enzima Taq polimerasa (5 U/Ul)	1 U	0.2
Glicerol (100%)	10 %	2.0
Primers, F+ R (1.0 UM cada uno)	0.25 uM cada uno	5.0
ADN (10 ng/ul)	50 ng	5.0

ANEXO 2. Programa estándar de PCR optimizado por *ERICOMP* TwinBlock™ /MJ, basado en procedimientos descritos por Hoisington *et al.*, (1994).

1 Ciclo de:	30 Ciclos de:	1 Ciclo de:
93° C por 1 minuto	93° C por 1 minuto	72° C por 5 minutos
	X° C por 2 minutos ¹	
	72° C por 2 minutos	

^{1/} X es un rango entre 50 y 60° C. Para la mayoría de los *primers* la temperatura de anillamiento fue 60° C. Otros *primers* anillaron a temperaturas de 50, 55 y 57° C.

ANEXO 3. *Primers* con sus respectivas temperaturas de alineamiento y detección de polimorfismos probados en el ADN de los parentales de la población segregante F_{2:3} SA5-HC1-1-5-1-1-1-7 x SA4-HC7-1-4-1-2-11-1 desarrollada por CORPOICA-CIMMYT con respuesta diferencial a suelos ácidos y eficiencia en la toma de fósforo

PRIMER	TEMPERATURA ALINEAMIENTO	TIPO DE MARCADOR	BIN	PRIMER	TEMPERATURA ANILLAMIENTO	OBSERVACIÓN	BIN
umc 1354	55	Dominante	1,00	bnlg 1671	55	Polimórfico	1,10

bnlg 1083	50	Polimórfico	1,02	bnlg 1055	60	Dominante	1,11
umc 1849		NA *	1,04	bnlg 180	60	Polimórfico	2,05
bnlg 1025	55	Dominante	1,07	bnlg 1045		NA *	2,07
umc 1184	60	Monomórfico	1,09	umc 1696	50	Monomórfico	2,10
umc 1726	55	Dominante	1,1	bnlg 1452	55	Monomórfico	3,04
bnlg 2243	55	Polimórfico (Heterocigotos P7yP8)	3,08	mmc 0251	55	Dominante	3,08
Umc 2048	55	Dominante	3,10	umc 1594	55	Monomórfico	3,10
umc 1561	57	Dominante	4,00	umc 1228	53	Monomórfico	4,01
Dupssr 34	53	Dominante	4,07	umc 1573	60	Monomórfico	4,09
Dupssr15		NA *	6,06	umc1520	55	Polimórfico	6,06
Umc 1572	60	Dominante	6,03	umc 1653	60	Polimórfico	6,07
bnlg 1686	55	Monomórfico	7,00	bnlg 1247	60	Polimórfico	7,02
Bnlg 1601	60	Dominante	3,06	bnlg 1443	60	Polimórfico (poliacrilamida)	6,05
bnlg 1666	60	Dominante	7,04	umc 1943	55	Monomórfico	4,02
bnlg 565	55	Monomórfico	5,02	bnlg 1046	55	Polimórfico	5,03
bnlg 1346	55	Dominante	5,07	bnlg 1154	55	Polimórfico (Poliacrilamida)	6,05
umc 1407	60	Monomórfico	7,05	umc 1359	60	Monomórfico (Heterocigoto)	8,00
phi 420701	55	Monomórfico	8,00	umc 1592	55	Polimórfico	8,01
umc 1414	55	Polimórfico (poliacrilamida)	8,01	bnlg 2235	60	Polimórfico (poliacrilamida)	8,02
bnlg 669	60	Monomórfico	8,03	bnlg 119	53	Monomórfico	8,04
bnlg 1651	60	Polimórfico (Heterocigoto P8)	8,05	bnlg 2181	60	Polimórfico	8,05
umc 1562	60	Polimórfico (poliacrilamida)	8,05	umc 1161	55	Monomórfico	8,06
Umc 1384	60	Polimórfico	8,07	bnlg 1056	60	Polimórfico	8,08
umc 1663	60	Monomórfico	8,09	umc 1957	60	Polimórfico (poliacrilamida)	9,00
umc 1279	60	Monomórfico	9,00	umc 1040	60	Monomórfico	9,01
dupssr6	60	Polimórfico	9,02	phi 022	60	Polimórfico	9,03
PRIMER	TEMPERATURA	TIPO DE	BIN	PRIMER	TEMPERATURA	OBSERVACIÓ	BIN
	ALINEAMIENTO	MARCADOR			ANILLAMIENTO	N	
phi 027	60	Heterocigoto	9,03	phi 061	60	Monomórfico (Heterocigoto P7)	9,03
umc 1137	60	Monomórfico	9,07	umc 1277	60	Monomórfico	9,08
phi 041	60	Dominante	10,00	umc 1293	60	Polimórfico (poliacrilamida)	10,00
umc 1318	60	Monomórfico	10,01	Mmc 0501	60	Monomórfico	10,02
umc 1432	60	Monomórfico	10,02	bnlg 640	60	Monomórfico	10,03
umc 1677	60	Polimórfico (poliacrilamida)	10,04	bnlg 1185	60	Dominante	10,05
umc 1506	60	Polimórfico (poliacrilamida)	10,05	bnlg 594	60	Monomórfico	10,06
Bnlg 1360	57	Polimórfico (Heterocigotos P7 y P8)	10,07	bnlg 1288	55	Polimórfico (poliacrilamida)	9,01
Bnlg 1730	55	Monomórfico (Heterocigotos p7 y p8)	9,03	Bnlg 279	55	Monomórfico (Heterocigoto P8)	9,07
Umc 1789	60	Polimórfico	9,06	umc 1804	57	Polimórfico	9,07

NA * No amplificó.

ANEXO 4. Tratamiento de los lotes de siembra de la población segregante F_{2:3} de maíz, bajo estudio.

Lote	Area	Desecada	Estimada	Kg/ha	Kg/lote	Urea	SFT	KCl	Sul Zn	Total	Urea	SFT	KCl	Sul Zn	Total
		% Saturación Al		Encalado		kg/ha					Kg/lote				
* 6 A	3060	65	48	-744	-228	250	149	66	29	345	77	46	20	9	151
* 6 B	1270	65	56	-433	-55	250	414	44	33	327	32	53	6	4	94
• 6 C	4220	65	61	-207	-87	250	40	22	34	345	106	17	9	14	146

* Lotes con alto fosforo

• Lotes con bajo fosforo

Época de Aplicación

Método de Aplicación

Urea

1/3 Presiembra y 2/3 a los 35 días después de la siembra

Kcl

½ Presiembra y ½ a los 35 días después de la siembra

SFT

Presiembra

Sulf Zinc

Presiembra

Sulf Mg

Presiembra

ANEXO 5. Análisis de varianza para las características morfoagronómicas VOLR, AP, MAS, FEM, ASI, EH, YLD y PROLI para la población de maíz F_{2:3} en el ambiente de alto fósforo.

VOLR	F deV	GL	SC (III)	CM	Fc	Pr > F
	Repeticiones	1	204.01	204.01	3.40	0.0673 ^{ns}
	Repeticiones Bloques	34	4621.48	135.93	2.26	0.0005**
	Líneas	179	13545.9	75.67	1.26	0.0738 ^{ns}
	Plantas cosechadas	1	64.81	64.81	1.08	0.3005 ^{ns}
	Error	144	8643.7	60.025		
	Total	359	30070.5			
HP	Repeticiones	1	763.21	763.21	4.92	0.0281*
	Repeticiones Bloques	34	14358.09	422.29	2.72	< .0001**
	Líneas	179	46040.10	257.20	1.66	0.0009**
	Plantas cosechadas	1	163.11	163.11	1.05	0.30 ^{ns}
	Error	144	22341.01	155.14		
	Total	359	91629.55			
FMAS	Repeticiones	1	4.66	4.66	3.42	0.0664 ^{ns}
	Repeticiones Bloques	34	127.72	3.75	2.75	< .0001**
	Líneas	179	396.41	2.21	1.62	0.0013**
	Plantas cosechadas	1	0.17	0.17	0.13	0.7207 ^{ns}
	Error	144	195.063	1.36		
	Total	359	794.93			
FFEM	Repeticiones	1	10.6461	10.6461	9.12	0.0030*
	Repeticiones Bloques	34	81.04	2.3837	2.04	0.0020*
	Líneas	179	457.48	2.5555	2.19	< .0001**
	Plantas cosechadas	1	0.43	0.4343	0.37	0.5430 ^{ns}
	Error	142	165.83	1.1678		
	Total	357	761.52			
ASI	Repeticiones	1	1.0104	1.0104	0.84	0.36 ^{ns}
	Repeticiones Bloques	34	82.5759	2.4287	2.01	0.0025*
	Líneas	179	251.2344	1.4035	1.16	0.1767 ^{ns}
	Plantas cosechadas	1	0.0603	0.0603	0.05	0.8235 ^{ns}
	Error	142	1.71.6853	1.2090		
	Total	357	591.76			
VOLR	F deV	GL	SC (III)	CM	Fc	Pr > F
EH	Repeticiones	1	50.09	50.0990	0.82	0.3671 ^{ns}
	Repeticiones Bloques	34	4070.17	119.711	1.96	0.0035*
	Líneas	179	15427	86.3531	1.41	0.0161**
	Plantas cosechadas	1	8.9173	8.91	0.15	0.7032 ^{ns}
	Error	143	8751.054	61.19618		
	Total	358	30958.49			
YLD	Repeticiones	1	1.3975	1.3975	3.78	0.0538*
	Repeticiones Bloques	34	17.8999	0.5264	1.42	0.0796 ^{ns}
	Líneas	179	111.0389	0.6203	1.68	0.0007**
	Plantas cosechadas	1	0.2066	0.2066	0.56	0.4559 ^{ns}
	Error	143	52.8654	0.3696		
	Total	358	205.42			
PROLI	Repeticiones	1	0.0136	0.0136	0.14	0.7079 ^{ns}

	Repeticiones Bloques	34	3.5324	0.1038	1.08	0.3719 ^{ns}
	Líneas	179	15.6917	0.0876	0.91	0.7309 ^{ns}
	Plantas cosechadas	1	1.2419	1.2419	12.86	0.0005**
	Error	143	13.71	0.0965		
	Total	358	34.39			

^{ns} No hay diferencias significativas entre las medias de la población.

* Significancia el nivel de probabilidad del 0.05.

** Significancia el nivel de probabilidad del 0.01.

ANEXO 6. Análisis de varianza para las características morfoagronómicas VOLR, AP, MAS, FEM, ASI, EH, YLD y PROLI para la población de maíz F_{2,3}. en el ambiente de bajo fósforo.

VOLR	F deV	GL	SC (III)	CM	Fc	Pr > F
	Repeticiones	1	1882.246	1882.246	63.39	< .0001**
	Repeticiones Bloques	34	1721..903	50.6442	1.71	0.0176**
	Líneas	178	9156.095	51.4387	1.73	0.0005**
	Plantas cosechadas	1	26.6410	26.6410	0.90	0.3453 ^{ns}
	Error	131	3890.070	29.69519		
	Total	345	18344.29			
HP	Repeticiones	1	2132.746	2132.746	8.50	0.004**
	Repeticiones Bloques	34	12569.80	369.7001	1.47	0.06 ^{ns}
	Líneas	179	77818.63	434.7409	1.73	0.0003**
	Plantas cosechadas	1	23.7655	23.76558	0.09	0.7587 ^{ns}
	Error	144	36116.31	250.8077		
	Total	359	146467.1			
FMAS	Repeticiones	1	384.6695	384.669	117.57	< .0001**
	Repeticiones Bloques	34	258.8145	7.6121	2.33	0.0003**
	Líneas	179	873.0458	4.8773	1.49	0.0065**
	Plantas cosechadas	1	4.6168	4.6168	1.41	0.2368 ^{ns}
	Error	144	471.13	3.2717		
	Total	359	2255.155			
FFEM	Repeticiones	1	390.4575	390.4575	115.53	< .0001**

	Repeticiones Bloques	34	264.6896	7.7849	2.30	0.0003**
	Líneas	179	978.9153	5.4688	1.62	0.0014**
	Plantas cosechadas	1	11.3151	11.3151	3.35	0.0694 ^{ns}
	Error	144	486.6959	3.3798		
	Total	359	2409.330			
ASI	Repeticiones	1	0.021	0.0216	0.01	0.9143 ^{ns}
	Repeticiones Bloques	34	49.8903	1.4673	0.79	0.7870 ^{ns}
	Líneas	179	348.453	1.9466	1.05	0.3872 ^{ns}
	Plantas cosechadas	1	1.4764	1.4764	0.79	0.3742 ^{ns}
	Error	144	267.6115	1.8584		
	Total	359	667.97			
VOLR	F deV	GL	SC (III)	CM	Fc	Pr > F
EH	Repeticiones	1	785.9495	785.9495	15.32	0.0001**
	Repeticiones Bloques	34	5305.861	156.0547	3.04	< .0001**
	Líneas	179	18224.23	101.8113	1.99	< .0001**
	Plantas cosechadas	1	37.93767	37.9376	0.74	.03912 ^{ns}
	Error	144	7385.692	51.2895		
	Total	359	37888.26			
YLD	Repeticiones	1	4.3969	4.39699	15.86	0.0001**
	Repeticiones Bloques	34	12.5210	0.3682	1.33	0.1287 ^{ns}
	Líneas	179	117.3076	0.6553	2.36	< .0001**
	Plantas cosechadas	1	4.260292	4.2602	15.37	0.0001**
	Error	142	39.3724	0.2772		
	Total	357	196.0007			
PROLI	Repeticiones	1	0.27709	0.2770	7.04	0.0089**
	Repeticiones Bloques	34	2.17030	0.0638	1.62	0.0272*
	Líneas	179	11.0096	0.06150	1.56	0.0029**
	Plantas cosechadas	1	0.09194	0.09194	2.33	0.1288 ^{ns}
	Error	142	5.59270	0.03938		
	Total	357	20.0456			

^{ns} No hay diferencias significativas entre las medias de la población.

* Significancia el nivel de probabilidad del 0.05.

** Significancia el nivel de probabilidad del 0.01.

ANEXO 7. Análisis de varianza para las características morfoagronómicas VOLR, AP, MAS, FEM, ASI, EH, YLD y PROLI para la población de maíz F_{2.3}. en la combinación de los dos ambientes de fósforo (4 y 15 ppm).

VOLR	F deV	GL	SC (III)	CM	Fc	Pr > F
	Ambientes	1	12071.72	12071.72	265.75	< .0001**
	Repetición Ambientes	2	2110.75	1055.379	23.23	< .0001**
	Bloques (repet*ambie)	68	6459.860	94.9979	2.09	< .0001**
	Líneas	179	14376.03	80.313	1.77	< .0001**
	Ambien * línea	178	7705.692	43.290	0.95	0.6343 ^{ns}
	Plantas cosechadas	1	87.68386	87.683	1.93	0.1658 ^{ns}
	Error	131	12537.54	45.42		
	Total	345	61095.77			
HP	Ambientes	1	128280.7	128280.7	632.50	< .0001**
	Repetición Ambientes	2	2920.772	1460.38	7.20	0.0009**
	Bloques (repet*ambie)	68	27384.76	402.71	1.99	< .0001**
	Líneas	179	90769.18	507.09	2.50	< .0001**
	Ambien * línea	178	33117.34	185.0131	0.91	0.7483 ^{ns}
	Plantas cosechadas	1	30.2992	30.2992	0.15	0.6994 ^{ns}
	Error	289	58613.90	202.8163		
	Total	719	367379.9			
FMAS	Ambientes	1	2330.93	2330.930	1005.46	< .0001**
	Repetición Ambientes	2	392.47	196.236	84.65	< .0001**
	Bloques (repet*ambie)	68	385.201	5.664	2.44	< .0001**
	Líneas	179	786.011	4.391	1.89	< .0001**
	Ambien * línea	179	543.488	3.036	1.31	0.0211*
	Plantas cosechadas	1	3.325	3.325	1.43	0.2320 ^{ns}
	Error	288	667.661	2.318		
	Total	718	5383.287			
FFEM	Ambientes	1	1882.328	1882.328	823.40	< .0001**
	Repetición Ambientes	2	405.115	202.557	88.61	< .0001**
	Bloques (repet*ambie)	68	348.710	5.128	2.24	< .0001**
	Líneas	179	975.555	5.450	2.38	< .0001**
	Ambien * línea	179	496.222	2.772	1.21	0.0735 ^{ns}
	Plantas cosechadas	1	8.190	8.190	3.58	0.0594*
	Error	287	656.091	2.286		
	Total	717	5041.381			

VOLR	F deV	GL	SC (III)	CM	Fc	Pr > F
ASI	Ambientes	1	22.43	22.430	14.64	0.0002**
	Repetición Ambientes	2	0.967	0.483	0.32	0.7295 ^{ns}
	Bloques (repet*ambie)	68	136.716	2.010	1.31	0.0668 ^{ns}
	Líneas	179	366.785	2.049	1.34	0.0144**
	Ambien * línea	179	231.591	1.293	0.84	0.8916 ^{ns}
	Plantas cosechadas	1	1.079	1.079	0.70	0.4019 ^{ns}
	Error	287	439.753	1.532		
	Total	717	1283.83			
EH	Ambientes	1	36540.47	36540.47	651.96	< .0001**
	Repetición Ambientes	2	848.008	424.004	7.57	0.0006**
	Bloques (repet*ambie)	68	9492.942	139.602	2.49	< .0001**
	Líneas	179	23371.19	130.565	2.33	< .0001**
	Ambien * línea	179	11293.89	63.094	1.13	0.1859 ^{ns}
	Plantas cosechadas	1	42.0030	42.003	0.75	0.3874 ^{ns}
	Error	288	16141.59	56.04		
	Total	718	105316.			

YLD	Ambientes	1	1.844	1.844	5.64	0.0182**
	Repetición Ambientes	2	5.9762	2.988	9.14	0.0001**
	Bloques (repet*ambie)	68	29.7983	0.438	1.34	0.0531*
	Líneas	179	163.786	0.915	2.80	<.0001**
	Ambien * línea	179	60.538	0.338	1.03	0.3975 ^{ns}
	Plantas cosechadas	1	3.176	3.17	9.71	0.0020**
	Error	286	93.528	0.327		
	Total	716	402.734			
PROLI	Ambientes	1	0.00007	0.00007	0.00	0.9739 ^{ns}
	Repetición Ambientes	2	0.3402	0.170	2.47	0.0865 ^{ns}
	Bloques (repet*ambie)	68	5.488	0.080	1.17	0.1895 ^{ns}
	Líneas	179	14.606	0.081	1.18	0.1019 ^{ns}
	Ambien * línea	179	12.096	0.067	0.98	0.5530 ^{ns}
	Plantas cosechadas	1	1.0034	1.003	14.56	0.0002**
	Error	285	19.637	0.068		
	Total	715	54.441			

^{ns} No hay diferencias significativas entre las medias de la población.

* Significancia el nivel de probabilidad del 0.05.

** Significancia el nivel de probabilidad del 0.01.

TABLA DE CONTENIDO

	Pag
<u>1 INTRODUCCIÓN.....</u>	3
<u>2 MARCO TEÓRICO.....</u>	9
<u>2.1 Origen y Generalidades del maíz.....</u>	9
<u>2.2 Aplicaciones del maíz.....</u>	12
<u>2.3 Suelos ácidos en relación con la deficiencia de fósforo</u>	12
<u>2.4 Impacto del estrés por fósforo.....</u>	14
2.4.1 Mecanismos de toma y transporte de fósforo en las plantas.....	15
<u>2.5 Marcadores moleculares microsatélites SSR.....</u>	18
<u>2.6 Mapas de ligamiento y detección de QTL.....</u>	19
2.6.1 Mapas de ligamiento.....	19
2.6.2 Detección de QTL.....	23

2.7 Mejoramiento convencional en plantas Vs Mejoramiento molecular.....	29
2.7.1 Mejoramiento convencional.....	29
2.7.2 Mejoramiento asistido por marcadores moleculares microsatélites.....	31
2.7.3 Antecedentes bibliográficos de identificación de QTLs en diferentes especies.....	32
<i>3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.....</i>	35
3.1 Formulación del problema.....	35
3.2 Preguntas de investigación.....	36
3.3 Justificación.....	37
<i>4 OBJETIVOS.....</i>	39
4.1 Objetivo general.....	39
4.2 Objetivos específicos.....	39
<i>5 MATERIALES & METODOS.....</i>	40
5.1 Material vegetal	40
5.2 Lugar de estudio	40
5.3 Diseño de la investigación	42
5.3.1 Variables de campo.....	42
5.4 Marcadores moleculares microsatélites SSR.....	44
5.4.1 Extracción de ADN.....	44
5.4.2 Selección de primers SSR.....	44
5.4.3 Condiciones de amplificación.....	45
5.4.4 Análisis de SSR y mapa de ligamiento	45
5.4.5 Análisis de datos morfoagronómicos.....	46
5.4.6 Análisis de detección de QTLs.....	46
<i>6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</i>	47
6.1 Correlación y distribución de frecuencias de las características registradas en campo.....	47
6.2 Genotipos eficientes en YLD.....	53

<u>6.3 Segregación de bandas microsátélites en la población F2 (SA5-HC1-5-1-1-1-7 x SA4-HC7-1-4-1-2-11-1).....</u>	<u>56</u>
<u>6.4 Mapa de ligamiento.....</u>	<u>60</u>
<u>6.6 Identificación de QTLs.....</u>	<u>68</u>
<u>7 CONCLUSIONES.....</u>	<u>77</u>
<u>8 RECOMENDACIONES.....</u>	<u>79</u>
<u>9 LITERATURA CITADA.....</u>	<u>81</u>
<u>9.1 Recursos Electrónicos.....</u>	<u>90</u>
<u>10 ANEXOS.....</u>	<u>91</u>

