



**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO**

**MAPEO DE QTLs ASOCIADOS A CARACTERES DE LA CAPTACIÓN
DE LUZ EN MAÍZ (*Zea mays* L.)**

Lic. Luciano Germán Molins

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTOR EN CIENCIAS AGRARIAS

DIRECTOR: Ing. Agr. PhD. Guillermo Hugo Eyhérbide

2018

**MAPEO DE QTLs ASOCIADOS A CARACTERES DE LA CAPTACIÓN DE LUZ EN
MAÍZ (*Zea mays* L.)**

Lic. Luciano Germán Molins

Licenciado en Ciencias Biológicas-Universidad Nacional de Luján

Esta Tesis es presentada como parte de los requisitos para optar al grado académico de Doctor en Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional de Rosario y no ha sido previamente presentada para la obtención de otro título en ésta u otra Universidad. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en INTA Pergamino, durante el período comprendido entre marzo del año 2013 y febrero del año 2017, bajo la dirección del Ing. Agr. PhD. Guillermo Hugo Eyhérbide.

Lic. Luciano Germán Molins

Ing. Agr. PhD. Guillermo Hugo Eyhérbide

AGRADECIMIENTOS

A mi director, Guillermo Eyhérbide, por toda la ayuda, el asesoramiento brindado durante todo este tiempo y los conocimientos transmitidos.

A mi asesor, Alfredo Cirilo, por la siempre constante predisposición ante cualquier consulta y por toda la ayuda brindada.

A Antonio Díaz Paleo, por toda la ayuda y los consejos transmitidos.

A Cecilia Mandolino, por la gran ayuda y asesoramiento para realizar el análisis de los datos.

Al CONICET, por la ayuda económica otorgada para poder realizar mi tesis doctoral.

A Erika Mroginski, por ayudarme durante el diseño de los experimentos.

A Juani Amas, Fede Gloriani, Juan Plaza, Giuliano Guerrini y Simón San Sebastián, por la gran ayuda otorgada durante las evaluaciones a campo.

A mis compañeras Daniela López Miro y Viviana Decker, por su gran colaboración durante el trabajo en el laboratorio.

A todos mis compañeros de trabajo, Agostina, Carla, Bernardo, Pablo, Román, Emilia, Silvina, Windy, Silvina O, Gera, Mariana y Hernán.

A toda la gente del sector de maíz por la ayuda con la siembra de los ensayos, especialmente a Bocha que siempre me ayudó con las polinizaciones del material.

A Daniel Presello, por la ayuda brindada con el manejo de los ensayos, aplicación de herbicidas y fertilizantes.

A toda mi familia, mi viejo, mi vieja, mi hermano, mi cuñada y mi abuela por todo su constante apoyo. A mi sobrina Emi que la quiero mucho.

A mis amigos por apoyarme y por la buena onda transmitida siempre.

PUBLICACIONES Y PRESENTACIONES A CONGRESOS

Molins, LG; Cirilo, AG; Eyhérabide, GH. “Mapeo de QTL asociados a caracteres de arquitectura de canopeo en maíz (*Zea mays* L.)”. Presentado en III Workshop Internacional de Ecofisiología de Cultivos. 28 y 29 de septiembre de 2017, en la ciudad de Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

Molins, LG; Mroginski, E; Cirilo, AG; Eyhérabide, GH. “Variabilidad genética de caracteres de la captura de luz en una población de líneas endocriadas recombinantes de maíz”. Presentado en XLIV Congreso Argentino de Genética. 13 al 16 de septiembre de 2015, en la ciudad de Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

Molins, LG; Amas, J; Gloriani, F; Mroginski, E; Cirilo, AG; Eyhérabide, G. “Variabilidad fenotípica de caracteres asociados a captación de radiación en una población de líneas endocriadas recombinantes de maíz”. Presentado en X Congreso Nacional de Maíz. 3 al 5 de septiembre de 2014 en la Bolsa de Comercio de la ciudad de Rosario, Argentina.

ÍNDICE GENERAL

Abreviaturas y símbolos	I
Resumen	V
Abstract	VII
1. Introducción	1
1.1. El maíz	1
1.1.1. Cultivo y demanda	1
1.1.2. Origen y evolución	2
1.1.3. Características botánicas	3
1.1.4. Desarrollo del maíz	3
1.1.5. Fisiología del maíz	6
1.1.6. Factores que determinan la productividad en maíz	7
1.1.6.1. Radiación incidente	8
1.1.6.2. Intercepción de la radiación	9
1.1.6.2.1. Arquitectura del canopeo	10
1.1.6.2.2. Arquitectura de planta	11
1.1.6.3. Senescencia	12
1.1.7. Mejoramiento genético de maíz	13
1.1.7.1. Mejoramiento de la intercepción de la radiación en maíz	16
1.2. Mapeo de QTLs	19
1.2.1. Poblaciones de mapeo	20
1.2.2. Marcadores moleculares	20
1.2.3. Mapas de ligamiento	21
1.2.4. Métodos de mapeo de QTLs	22
1.2.5. Mapeo de QTLs en maíz	24
1.2.5.1. Mapeo de QTLs que controlan el ángulo de inserción foliar	24
1.2.5.2. Mapeo de QTLs asociados al índice de área foliar	25
1.2.5.3. Mapeo de QTLs asociados a <i>stay green</i>	27
1.2.5.4. Mapeo de QTLs asociados a altura de planta y longitud de entrenudos	28
1.2.6. Antecedentes de trabajo en INTA Pergamino	29
1.3. Objetivo general	31
1.3.1. Objetivos específicos	31

1.4.	Hipótesis	31
2.	Materiales y métodos	33
2.1.	Material vegetal	33
2.2.	Diseño experimental	34
2.3.	Evaluaciones fenotípicas	35
2.3.1.	Análisis estadístico de los datos fenotípicos	39
2.3.2.	Análisis de las segregaciones transgresivas	40
2.3.3.	Estimación de la heredabilidad en sentido estricto	40
2.3.4.	Estimación de las correlaciones genotípicas entre rasgos	41
2.3.5.	Determinación de los coeficientes de sendero entre caracteres	42
2.3.6.	Predicción de la respuesta correlacionada en rendimiento	42
2.4.	Caracterización genotípica	43
2.4.1.	Extracción de ADN genómico	43
2.4.2.	Amplificación de los SSR mediante PCR	43
2.4.3.	Información sobre los marcadores SSR	45
2.4.4.	Análisis de segregación de los marcadores SSR	45
2.4.5.	Construcción del mapa de ligamiento	46
2.5.	Mapeo de QTLs	47
2.5.1.	Mapeo por intervalo compuesto	47
2.5.2.	Mapeo de QTLs mediante un modelo lineal mixto	48
2.5.3.	Mapeo de caracteres múltiples	49
3.	Resultados	52
3.1.	Análisis estadístico	52
3.1.1.	Estadística descriptiva	52
3.1.1.1.	Comportamiento de las líneas parentales	52
3.1.1.2.	Evaluación de la población de RILs	57
3.1.2.	Análisis de la distribución normal	64
3.1.3.	Análisis de las segregaciones transgresivas	68
3.1.4.	Correlaciones fenotípicas entre caracteres	72
3.1.5.	Variabilidad genotípica y heredabilidad de los caracteres	78
3.1.6.	Correlaciones genotípicas entre caracteres	81
3.1.7.	Análisis de sendero	84
3.1.8.	Predicción de la respuesta correlacionada en rendimiento	86

3.2.	Caracterización genotípica	88
3.2.1.	Prueba de polimorfismos en las líneas parentales	88
3.2.2.	Genotipado de la población de RILs	91
3.2.2.1.	Cobertura del genoma	96
3.2.3.	Construcción del mapa de ligamiento	98
3.3.	Mapeo de QTLs	104
3.3.1.	Mapeo por intervalo compuesto	104
3.3.2.	Mapeo mediante un modelo lineal mixto	114
3.3.3.	Mapeo de caracteres múltiples	122
4.	Discusión	131
4.1.	Evaluación genotípica	131
4.2.	Evaluación fenotípica de la población de RILs	135
5.	Conclusiones	151
6.	Bibliografía	154
	Anexo I	173
	Anexo II	174
	Anexo III	176
	Anexo IV	183
	Anexo V	190

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1:	Herbicidas aplicados durante el ciclo de cultivo	35
Tabla 2:	Reactivos y sus respectivas concentraciones empleadas para la reacción de PCR	44
Tabla 3:	Programa de ciclado para la amplificación de los SSR	44
Tabla 4:	Valores medios obtenidos para las líneas parentales en el Exp1	53
Tabla 5:	Valores medios obtenidos para las líneas parentales en el Exp3	54
Tabla 6:	Valores medios de las líneas parentales a través de los tres experimentos	55
Tabla 7:	Medidas de resumen de los caracteres evaluados en el Exp1	58
Tabla 8:	Medidas de resumen de los caracteres evaluados en el Exp 2	59
Tabla 9:	Medidas de resumen de los caracteres evaluados en el Exp3	60
Tabla 10:	Medidas de resumen de los caracteres evaluados con los datos promedios a través de los tres ambientes.	61

Tabla 11: Valores de asimetría, kurtosis y test Shapiro-Wilks modificado para los caracteres evaluados en el Exp1	65
Tabla 12: Valores de asimetría, kurtosis y test Shapiro-Wilks modificado para los caracteres evaluados en el Exp2	66
Tabla 13: Valores de asimetría, kurtosis y test Shapiro-Wilks modificado para los caracteres evaluados en el Exp3	67
Tabla 14: Segregación transgresiva de la población de RILs sobre las líneas parentales	68
Tabla 15: Correlaciones fenotípicas entre los caracteres evaluados en el Exp1	73
Tabla 16: Correlaciones fenotípicas entre los caracteres evaluados en el Exp3	74
Tabla 17: Correlaciones fenotípicas entre los caracteres evaluados a través de ambientes	75
Tabla 18: Análisis de la variabilidad genotípica existente para cada caracter evaluado a través de ambientes para una población de RILs y sus progenitores	78
Tabla 19: Estimaciones de los componentes de varianza y heredabilidad de cada carácter	80
Tabla 20: Valores de correlaciones genotípicas obtenidas entre los caracteres evaluados a través de ambientes	82
Tabla 21: Coeficientes de sendero con efectos directos e indirectos de los caracteres asociados a la captura de luz sobre el RGP.	84
Tabla 22: Coeficientes de sendero con efectos directos e indirectos de los caracteres asociados a floración sobre el RGP	85
Tabla 23: Coeficientes de sendero con efectos directos e indirectos de los caracteres asociados a la senescencia en postfloración sobre el RGP	85
Tabla 24: Coeficientes de sendero con efectos directos e indirectos de los caracteres que presentaron una correlación significativa con el RGP a través de ambientes	86
Tabla 25: Predicción de la respuesta correlacionada y la respuesta por selección directa del rendimiento	87
Tabla 26: Segregación de los marcadores en la población de RILs y prueba de chi-cuadrado	93
Tabla 27: Cantidad de marcadores por cromosoma, cobertura genómica y distancia promedio entre SSR	98
Tabla 28: Posición de cada SSR en el mapa de ligamiento, coordenadas en pb y distancia entre cada par de SSR	100
Tabla 29: QTLs identificados para cada rasgo en cada experimento mediante mapeo por intervalo compuesto	105

Tabla 30: QTLs identificados para cada rasgo mediante el método de modelo lineal mixto	115
Tabla 31: QTLs que mostraron interacción significativa con el ambiente	118
Tabla 32: Interacciones epistáticas entre pares de QTLs y magnitud de la misma	119
Tabla 33: QTLs identificados mediante el procedimiento JZmapqtl para caracteres múltiples	123
Tabla 34: Porcentaje de varianza fenotípica explicado por cada modelo de QTLs	127
Tabla 35: Geles de agarosa utilizados para la cuantificación de las muestras de ADN	174
Tabla 36: <i>Buffer</i> TAE utilizado para el armado de los geles de agarosa	174
Tabla 37: <i>Loading buffer</i> utilizado para la siembra de las muestras de ADN en geles de agarosa	174
Tabla 38: <i>Buffer</i> utilizado para la extracción de ADN genómico	174
Tabla 39: Geles de poliacrilamida utilizados para la separación de los fragmentos de amplificación	174
Tabla 40: <i>Buffer</i> TBE utilizado durante la electroforesis para la separación de los fragmentos de amplificación	175
Tabla 41: Protocolo para el revelado de geles de poliacrilamida	175
Tabla 42: <i>Buffer</i> TE utilizado para la resuspensión del ADN luego de la extracción	175
Tabla 43: Marcadores SSR empleados para la construcción del mapa de ligamiento	183

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Evolución del $NHVR_{PF}$ en las líneas parentales en el Exp1, Exp3 y a través de ambientes	56
Figura 2: Número de genotipos transgresivos y no transgresivos para cada carácter en el Exp1	69
Figura 3: Número de genotipos transgresivos y no transgresivos para cada carácter en el Exp3	70
Figura 4: Número de genotipos transgresivos y no transgresivos para cada carácter a través de ambientes	71
Figura 5: Cantidad de marcadores polimórficos, monomórficos y sin amplificación	88
Figura 6: Tipo de repetición y porcentaje de cada una para los marcadores analizados	89
Figura 7: Proporción de marcadores polimórficos, monomórficos y sin amplificación para cada tipo de repetición	90

Figura 8: Proporción de marcadores con segregación distorsiva en cada cromosoma	92
Figura 9: Longitud física de cada uno de los bins de cada cromosoma	97
Figura 10: Mapa de ligamiento obtenido a partir de la población de RILs	99
Figura 11: Ubicación de los QTLs detectados en los 10 cromosomas mediante CIM	112
Figura 12: Ubicación de los QTLs detectados mediante el método de modelo lineal mixto	120
Figura 13: Localización de los QTLs y sus efectos aditivos, identificados mediante análisis multi caracter	125
Figura 14: Histogramas de distribución fenotípica de los caracteres evaluados en el Exp 1	176
Figura 15: Histogramas de distribución fenotípica de los caracteres evaluados en el Exp 2	178
Figura 16: Histogramas de distribución fenotípica de los caracteres evaluados en el Exp 3	180
Figura 17: Precipitaciones diarias a lo largo del ciclo de cultivo del Exp1.	190
Figura 18: Variación de la temperatura máxima, media y mínima durante el Exp1.	190
Figura 19: Precipitaciones diarias a lo largo del ciclo de cultivo del Exp2.	191
Figura 20: Variación de la temperatura máxima, media y mínima durante el Exp2.	191
Figura 21: Precipitaciones diarias a lo largo del ciclo de cultivo del Exp3.	192
Figura 22: Variación de la temperatura máxima, media y mínima durante el Exp3.	192

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

A: Adenina.

ADN: Ácido Desoxiribonucleico.

AFLP: *Amplified Fragment Longitud Polymorphism* o Polimorfismo en la Longitud de los Fragmentos Amplificados.

AFM: Área foliar máximo por planta.

Ale: Alemania.

AMH: Ancho máximo de la hoja.

ÁNG: Ángulo vertical de inserción foliar.

AP: Altura de planta.

APS: Persulfato de amonio.

Arg: Argentina.

ARN: Ácido Ribonucleico.

ASI: *Anthesis-Silking Interval* o Intervalo Anthesis-Silking.

BIO: Biomasa aérea en madurez fisiológica.

C: Citosina.

CIM: *Composite Interval Mapping* o Mapeo por Intervalo Compuesto.

cm: Centímetro.

cm²: Centímetros cuadrados.

cM: CentiMorgan.

CTAB: *Cetyl Trimethylammonium Bromide* o Bromuro de hexadeciltrimetilamonio.

C-terminal: Extremo carboxilo terminal de una proteína.

DFFF: Densidad de flujo de fotones fotosintéticos.

dNTP: Desoxinucleótido Trifosfato.

e: Número de Euler, igual a 2,71828.

EA: Periodo emergencia-antesis.

EDTA: 2,2',2'',2'''-(*Ethane-1,2-diyl*dinitrilo) *tetraacetic acid* o Ácido etilendiaminotetraacético.

EEA: Estación Experimental Agropecuaria.

ES: Periodo emergencia-silking.

EST: *Expressed Sequence Tagged* o Etiquetas de Secuencias Expresadas.

FAO: Organización de Agricultura y Alimentos de las Naciones Unidas.

FFF: Flujo de fotones fotosintéticos.

FDR: *False Discovery Rate* o Tasa de Falsos Descubrimientos.

fRFAI: Fracción de la Radiación Fotosintéticamente Activa Interceptada.

G: Guanina.

g: Gramos.

h^2 : Heredabilidad en sentido estricto.

ha: hectárea.

HCl: Ácido clorhídrico.

IAF: Índice de área foliar.

IC: Índice de cosecha.

INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

k: Coeficiente de extinción de la luz.

kg: Kilogramos.

LE: Longitud promedio de los entrenudos.

LMH: Longitud máxima de la hoja.

Log_e : logaritmo en base e.

LR: *Likelihood Ratio* o ratio de verosimilitud.

M: Molar.

Mb: Mega bases.

Mpb: Megapares de bases.

MgCl_2 : Dicloruro de Magnesio.

MgSO_4 : Sulfato de Magnesio.

mg: Miligramos.

mm: Milímetros.

mM: Milimolar.

m^2 : metros cuadrados.

MIM: *Multiple Interval Mapping* o Mapeo por Intervalos Múltiples.

ml: Mililitro.

MT-CIM: *Multi Trait-Composite Interval Mapping* o Mapeo Multi Caracter por Intervalos Compuestos.

MT-MIM: *Multi Trait-Multiple Interval Mapping* o Mapeo Multi Carácter por Intervalos Múltiples.

NaCl: Cloruro de Sodio.

ng: Nanogramos.

NGP: Número de granos por planta.

NHT: Número de hojas totales.

nm: Nanómetros.

nM: Nanomolar.

N: Nitrógeno.

N-terminal: Extremo amino terminal de una proteína.

P: Fósforo.

pb: Pares de bases.

PG: Peso del grano.

pH: Concentración de iones hidrógeno.

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa.

PES: Periodo emergencia-senescencia.

PHV: Persistencia de las hojas verdes en postfloración.

QTL: *loci* de caracteres cuantitativos.

REML: *Restricted Maximum Likelihood* o Máxima Verosimilitud Restringida.

RFA: Radiación fotosintéticamente activa.

RFAI: Radiación fotosintéticamente activa interceptada.

RFLP: *Restriction Fragment Longitud Polymorphism* o Polimorfismo en la Longitud de los Fragmentos de Restricción.

RGP: Rendimiento en granos por planta.

RIL: Líneas endocriadas recombinantes.

rpm: Revoluciones por minuto.

R1: Estadio de liberación de estigmas o floración femenina.

R²: Coeficiente de determinación.

SDS: *Sodium Dodecyl Sulfate* o Dodecil sulfato de sodio.

SNP: *Single Nucleotide Polymorphism* o Polimorfismo de Nucleótido Simple.

SSD: *Single Seed Descent* o Descendencia de semilla única.

SSR: *Simple Sequence Repeat* o Repeticiones de secuencia simple.

T: Timina.

TEMED: N, N, N', N'-tetrametiletildiamino.

Tris: 2-amino-2-(hidroximetil)-1-3-propaneídol.

TSP1: Tasa promedio de senescencia en postfloración (hojas.día⁻¹).

TSP2: Tasa promedio de senescencia en postfloración (cm².día⁻¹).

U: unidades.

USA: *United States of America* o Estados Unidos de América.

TAE: Tris-Ácido Acético-EDTA.

TBE: Tris-Ácido Bórico-EDTA.

TE: Tris-EDTA.

UTR: *UnTranslated Region* o Región No Traducida.

V1: Estadio vegetativo de una hoja completamente liberada.

V6: Estadio vegetativo de seis hojas completamente liberadas.

VT: Estadio de transición vegetativa o floración masculina.

α : Alfa.

°: Grados.

°C: Grados centígrados.

%: Porcentaje.

μ l: Microlitro.

μ MOL: Micromoles.

μ M: Micromolar.

RESUMEN

En maíz, bajo condiciones de alta productividad, tanto la estructura como la supervivencia del canopeo determinan el máximo aprovechamiento de la radiación incidente durante el crecimiento del cultivo. Determinados caracteres, como el número y tamaño de las hojas, su ángulo de inserción en el tallo y la altura de planta condicionan la penetración y distribución de la luz a través de los estratos foliares y así afectan la eficiencia con la cual es interceptada, mientras que el retardo en la senescencia permite prolongar la producción de fotoasimilados para el llenado de los granos. El uso de estos atributos como rasgos secundarios en la selección de genotipos mejorados para esos ambientes puede aumentar la eficiencia del proceso y el aprovechamiento de la variabilidad genética asociada a estos rasgos en conjunto con el mapeo de QTLs permitiría entender las bases genéticas que los controlan y mejorar por selección la eficiencia de la captación de luz en maíz. El objetivo de este trabajo fue estudiar las bases genéticas que controlan la variabilidad de los caracteres ecofisiológicos asociados con la captación de radiación solar en una población de líneas endocriadas recombinantes de maíz mediante la identificación de QTLs asociados a los mismos.

Como material vegetal se utilizó una población de 151 RILs obtenida a partir del cruzamiento entre las líneas parentales LP179 y L5605, las cuales difieren significativamente en los valores medios de los caracteres asociados a la captura de luz. Se realizaron tres ensayos de evaluación fenotípica durante las campañas 2013/2014, 2014/2015 y 2015/2016. Se determinó la presencia de variabilidad genotípica y el efecto de la interacción genotipo x ambiente para cada uno de los caracteres evaluados y se estimaron las heredabilidades en sentido estricto en base a medias de familias endocriadas. Para la evaluación genotípica se utilizaron marcadores moleculares SSR que previamente resultaron polimórficos entre las líneas parentales. Se construyó un mapa de ligamiento genético con los SSR que presentaron segregaciones esperadas 1:1 para la población de RILs. Mediante los programas Win QTL Cartographer V 2.5 y QTL Network 2.0 se efectuó la búsqueda de QTLs siguiendo los métodos de mapeo por Intervalo Compuesto, mapeo por Intervalo Compuesto mediante un modelo lineal mixto y mapeo de caracteres múltiples.

En la población de RILs existió variabilidad genotípica significativa para todos los caracteres evaluados y el efecto de la interacción genotipo x ambiente fue significativo, indicando un comportamiento diferencial de los genotipos ante los cambios de ambientes. Se obtuvieron valores de heredabilidad elevados para todos los rasgos (mayores a 0,5), indicando una importante contribución de la variabilidad genotípica a la variación fenotípica de los caracteres.

Con los marcadores que segregaron de acuerdo a las frecuencias esperadas se construyó un mapa de ligamiento, mediante el cual se obtuvo una cobertura de 1319,9 cM y una distancia promedio entre SSR de 12,8 cM.

Mediante el análisis de correlaciones y de sendero se determinó que el IAF fue el atributo asociado a la arquitectura de canopy que mayor relevancia tuvo en la generación de biomasa y rendimiento. Sin embargo no sería conveniente emplearlo en un esquema de selección indirecta para mejorar el rendimiento, sino incorporarlo como característica secundaria en un índice de selección.

La evaluación de una población de mapeo generada a partir de germoplasma local y genéticamente distante de las poblaciones reportadas en la literatura aportó nueva información acerca de la arquitectura genética que controla a los caracteres asociados con captura de luz. Los diferentes métodos de mapeo empleados permitieron identificar varias regiones genómicas, algunas de las cuales coinciden con otras previamente reportadas en trabajos previos, y nuevas regiones que no habían sido identificadas. Algunos QTLs con estabilidad en su expresión a través de ambientes, podrían elegirse en un esquema de selección asistida por marcadores orientado a aumentar la producción de biomasa y el rendimiento potencial en ambientes locales, a través del mejoramiento de los rasgos que determinan la eficiencia en la captura de luz, que se encuentran bajo un control genético complejo, compuesto por QTLs de efecto mayor en conjunto con QTLs de efecto menor.

ABSTRACT

QTL Mapping of traits associated with light interception in maize (*Zea mays* L.)

Canopy architecture and its persistence in maize have effect in the capture of incident light during crop season under high productivity conditions. The study of the genetic basis of these traits would allow to define strategies aimed to the improvement of light interception by this crop. The objective of this study was the detection of genomic regions associated with plant and leaf architecture traits and *stay green* in a population of 151 recombinant inbred lines derived from the cross of LP179 x L5605. The population was phenotyped in three environments in 2013/2014, 2014/2015 and 2015/2016 growing seasons in INTA Pergamino. The genotypic analysis was performed with 150 polymorphic SSR markers and the linkage map was constructed with 103 markers showing expected Mendelian 1:1 segregation. This map covered a total length of 1319,9 cM with an average distance between markers of 12,8 cM. The population showed genotypic and genotype by environment variances significant for all traits. Narrow sense heritabilities on the means of RIL basis were estimated from components of variance and high values were obtained for all traits. Genotypic correlations and path analysis indicated that leaf area index was the most relevant trait associated with canopy architecture in the generation of high yield. Nevertheless, this trait should be better used as a secondary or as a primary trait included in a selection index. By the different approach of QTL mapping, several genomic regions were identified that coincide with previously reported in the literature, and new regions that were not previously informed. The mapping population with a local genetic background provided novel information about the genetic architecture that controls the traits associated with light interception. Some QTLs with consistent expression through environments could be useful in a marker-assisted selection program aimed to increase potential yield in local environments through the improvement of traits associated with light interception, which have a complex genetic control.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. EL MAÍZ

1.1.1. CULTIVO Y DEMANDA

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cultivos alimenticios más antiguos que se conocen. Es una especie diploide ($2n = 20$) perteneciente a la familia de las Poáceas, Tribu Maydeas y es la única especie cultivada del género *Zea*. Se trata de una especie completamente domesticada que no podría sobrevivir en forma salvaje, siendo absolutamente dependiente de los cuidados del hombre (Galinat, 1988).

El maíz es una de las especies cultivadas más productivas, de metabolismo C4 con una alta tasa de actividad fotosintética y el más alto potencial para la producción de carbohidratos por unidad de superficie y tiempo (Aldrich *et al.*, 1975).

Actualmente es el segundo cultivo con mayor producción a nivel mundial, después del trigo (*Triticum aestivum* L.) y el primer cereal en rendimiento en grano por hectárea. En la campaña 2016/17 la producción mundial alcanzó 1067 millones de toneladas en una superficie sembrada de 177 millones de hectáreas (<https://www.produccionmundialmaiz.com>). En nuestro país, en la misma campaña la producción fue de 38,0 millones de toneladas con un área sembrada de 5,8 millones de hectáreas y un rendimiento promedio de 79,2 quintales por hectárea, siendo las provincias de Córdoba y Buenos Aires los principales núcleos de producción, con 2,22 y 1,62 millones de hectáreas sembradas respectivamente (Bolsa de Comercio de Rosario, 2017).

Es un cereal de importancia económica a nivel mundial ya sea como alimento humano, para el ganado o como materia prima de un gran número de productos industriales. Es cultivado en una gran diversidad de ambientes de producción, que abarcan desde la zona tropical hasta los 58° de latitud norte en Canadá y Rusia y los 40° de latitud sur en Argentina y Chile. Se clasifica de acuerdo a la latitud y el ambiente en el que se cultiva. El maíz cultivado en los ambientes más cálidos entre la línea ecuatorial y los 30° de latitud sur y los 30° de latitud norte es conocido como maíz tropical, mientras que el cultivado más allá de los 34° de latitud sur y norte es llamado maíz de zona templada. Los maíces subtropicales crecen entre las latitudes de 30° y 34° de ambos hemisferios, no existiendo límites latitudinales o regionales rígidos que condicionen su crecimiento (Paliwal, 2001). También puede ser clasificado en base a la constitución del

endosperma del grano (duro o *Flint*, dentado, harinoso, ceroso, dulce y *pop corn*), en base a la madurez y sus usos.

El consumo de maíz viene incrementándose aceleradamente. El rápido crecimiento de la industria de etanol en Estados Unidos, la evolución económica de los países asiáticos, la recuperación de la industria aviar, los nuevos mercados y el aumento de la población son algunas de las razones que han llevado a que el consumo mundial haya crecido más de 35% durante la última década.

Para el año 2030, se estima que la demanda mundial de maíz será de aproximadamente 1500 millones de toneladas (datos y proyecciones de la FAO). En un contexto de aumento de la demanda anual, será necesario aumentar la producción a una cantidad aproximada de 40 millones de toneladas por año. Para garantizar el abastecimiento de la demanda las alternativas que permitirían lograrlo son destinar más superficie para el cultivo y aumentar los rendimientos. Asumiendo que no habrá un incremento sustancial en el área de producción, para cubrir esta demanda se necesitará una tasa de crecimiento anual en la producción de 4 % aproximadamente. El aumento de la producción deberá reducir la brecha entre los rendimientos potenciales y los reales (Cassman *et al.*, 2003; Fischer and Edmeades, 2010), principalmente a través de un mejor aprovechamiento de los recursos (captura y uso) cuando estos se encuentran en condiciones deficitarias.

1.1.2. ORIGEN Y EVOLUCIÓN

El centro de origen del maíz está en México, desde donde se difundió a todo el mundo a partir de finales del siglo XV. Actualmente, los estudios moleculares que han llevado a la identificación del locus *tga1* (arquitectura de gluma teosinte 1) que controla la arquitectura de la gluma, afirman que el teosinte (*Zea mays ssp. parviglumis*) es el antecesor silvestre del maíz y que ha participado directamente en el origen del maíz cultivado (Beadle, 1980; Dorweiler *et al.*, 1993). Además, existen evidencias que afirman que el origen del maíz involucró la mutación de varios *loci* importantes en las formas antiguas de teosinte y de ahí esos genes se trasladaron a estructuras genéticas favorables bajo el efecto de numerosos *loci* menores (Doebley, 1994).

1.1.3. CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS

El maíz se caracteriza por poseer un sistema radical fibroso, de buen crecimiento. Está formado por las raíces seminales, que se originan de la semilla y comprende a la radícula y las raíces seminales laterales, y el sistema de raíces nodales, que comienzan su elongación a partir del coleóptilo en el estadio V1 y a partir del estadio V6 se convierten en el principal sistema de raíces de la planta (Ritchie and Hanway, 1982; Nielsen, 2000).

La mayoría de los híbridos de maíz de climas templados poseen entre 17 y 22 hojas. Estas están compuestas por una lámina ensanchada en la base, un collar en la base de la lámina y una vaina que envuelve a la hoja alrededor del tallo en el entrenudo.

El tallo está formado por los entrenudos, las hojas insertas en los nudos, el perfilo y el meristema apical (Galinat, 1994). Cuando la planta alcanza el estadio V6, los entrenudos comienzan a elongarse rápidamente y la planta pasa a través de un periodo de rápido crecimiento y elongación.

El maíz es una planta diclino monoica y por lo tanto desarrolla inflorescencias con flores de un solo sexo que crecen en lugares separados de la misma. La inflorescencia femenina crece a partir de las yemas apicales en las axilas de las hojas y la inflorescencia masculina se desarrolla en el punto de crecimiento apical en el extremo superior de la planta. Inicialmente, ambas inflorescencias tienen primordios de flores bisexuales, pero durante el proceso de desarrollo los primordios de los estambres en la inflorescencia axilar abortan y lo mismo ocurre con los primordios de los gineceos en la inflorescencia apical. La determinación del sexo en esta especie es un proceso complejo que involucra una interacción entre determinantes genéticos, ambientales y hormonales (Dellaporta and Calderón Urrea, 1994).

1.1.4. DESARROLLO DEL MAÍZ

En maíz, aunque usualmente se considera el comienzo de la fase reproductiva cuando la planta comienza a liberar polen desde las anteras en la panoja y cuando emergen los estigmas de la inflorescencia femenina, el comienzo de la fase reproductiva ocurre en el estadio V6 y prosigue a través del proceso de diferenciación y desarrollo de las inflorescencias masculina y femenina previo a la visualización del polen liberado y de los estigmas emergidos (Nielsen, 2000). La fase vegetativa es definida como el periodo en el cual se forman los primordios de las hojas a partir del meristema apical, el cual es el punto principal de crecimiento de la planta. Las hojas se forman

en módulos conocidos como fitómeros antes que la planta ingrese en la fase reproductiva. Cada fitómero consiste de una hoja, el meristema axilar y un entrenudo (Langdale, 2005). Esta fase concluye luego de que los primordios de las hojas son formados, en el estadio V6. La fase reproductiva es definida como el periodo en el cual comienza la formación del primordio de la panoja en el meristema apical y de los primordios de las espigas y concluye durante la madurez fisiológica del grano. Esta fase comienza con un rápido crecimiento de la planta hasta la polinización y un aumento en la tasa de producción de materia seca. Los tallos comienzan a elongarse rápidamente y ocurre un aumento rápido en la altura de la planta, y las raíces incrementan su extensión resultando en un crecimiento rápido del sistema radical y una mayor eficiencia en la toma de nutrientes.

La dispersión de polen y la emergencia de los estigmas representan el periodo más crítico del crecimiento y desarrollo del maíz en términos de rendimiento potencial. El estadio de crecimiento llamado VT ocurre cuando emerge la rama apical de la panoja. En este momento la planta alcanza su máxima altura y la liberación de polen por parte de la panoja podría comenzar antes de que esta haya finalizado su emergencia. La dispersión de polen ocurre desde las anteras, las cuales emergen de las glumas de cada una de las dos flores de las espiguillas de la panoja. Los granos de polen son dispersados por el viento, por lo tanto se considera al maíz como una especie de polinización anemófila y alógama, dado que la fecundación es cruzada.

El periodo conocido como R1 comienza cuando emergen los estigmas de la inflorescencia femenina. Cada ovario desarrolla su propio estigma, el cual debe ser polinizado para que el óvulo sea fertilizado y se desarrolle un grano. La elongación de los estigmas comienza generalmente siete o diez días antes de su emergencia, en las flores basales de las espigas y prosigue hacia las apicales, por lo tanto los estigmas basales emergen antes que los apicales.

La polinización ocurre cuando los granos de polen son transferidos por el viento hacia los estigmas. Una vez depositado sobre estos, el grano de polen germina y desarrolla un tubo polínico que contiene el material genético para fertilizar al óvulo. Luego de dos o tres días de fertilizados los óvulos, los estigmas colapsan y se desprenden.

Luego de la polinización y la fertilización comienza el desarrollo y llenado del grano. Este periodo dura aproximadamente 60 días hasta que los granos están fisiológicamente maduros. Durante este periodo, el destino principal de los fotosintatos producidos por la planta será la espiga en desarrollo y procede a través de varios estadios (Ritchie and Hanway, 1982):

- **Estado de grano ampolla (R2):** Aproximadamente 15 días después de la emergencia de estigmas. Los granos poseen un aspecto blanco y con abundante contenido de agua. Los estigmas adoptaron un color marrón y se secaron y comienza a acumularse almidón en el endosperma. La radícula, el coleoptilo y la primera hoja embrionaria se han formado en el embrión en desarrollo.
- **Estado de grano lechoso (R3):** Aproximadamente 22 días luego de la emergencia de estigmas. El grano adopta un color amarillo y con un fluido lechoso. El almidón continúa acumulándose en el endosperma. La división de las células del endosperma ha concluido y el crecimiento se debe a la expansión celular y acumulación de almidón.
- **Estado de grano pastoso (R4):** Aproximadamente 28 días luego de la emergencia de los estigmas. El fluido en el grano cambia hacia una consistencia pastosa debido a la acumulación de almidón. En este estadio se han formado 4 hojas embrionarias.
- **Estado de grano dentado (R5):** Cerca de 42 días luego de la emergencia de estigmas, los granos comienzan a adoptar un aspecto dentado. La quinta hoja embrionaria y las raíces seminales laterales se forman en este estadio.
- **Madurez fisiológica (R6):** Cerca de 60 días después de la emergencia de estigmas. En este momento los granos alcanzan su máximo peso seco y el contenido de humedad de los mismos es de 30 por ciento aproximadamente.

Mientras que el periodo en el cual ocurre la polinización es considerado el más crítico para la determinación del rendimiento, un estrés durante el periodo de llenado de granos puede también ocasionar pérdidas de producción (Andrade *et al.*, 1996). Estas pérdidas en rendimiento pueden ser ocasionadas por un fijado de granos incompleto, producción de granos con poco peso seco o la muerte prematura de las plantas. La presencia de un estrés hídrico o nutricional podría ocasionar el aborto de los granos en desarrollo durante los estadios R2 o R3, si la producción de fotosintatos para el llenado de los mismos es limitada. Si el estrés ocurre durante los estadios R4 o R5 podría afectar el peso de los granos debido a un incompleto periodo de llenado de los mismos.

1.1.5. FISIOLÓGÍA DEL MAÍZ

En maíz, al igual que en el resto de los cultivos, la producción depende de la intercepción de la radiación solar y su conversión en biomasa. La cantidad de radiación incidente que es interceptada por el cultivo está determinada por el área foliar, la orientación de las hojas y la duración de su actividad fotosintética en el canopeo. El índice de área foliar (IAF) es la superficie foliar fotosintéticamente activa por unidad de superficie de suelo y es importante para determinar la cantidad de radiación interceptada. La eficiencia de intercepción de luz aumenta en respuesta a un incremento del IAF hasta un valor cercano a 4, en que se alcanza una eficiencia cercana al 95% de la luz incidente (IAF crítico). Incrementos adicionales en el IAF tienen poco efecto en la intercepción de luz en maíz (Lafitte, 2001). La densidad de siembra es un factor determinante del IAF y de la intercepción de la radiación, en la que también inciden el número de hojas verdes por planta, la distancia entre los surcos de siembra y la orientación de las hojas en el espacio, esto último determinado por el ángulo de inserción vertical de las hojas sobre el tallo.

La cantidad de radiación interceptada a lo largo de todo el periodo de cultivo depende del tiempo requerido para alcanzar la intercepción máxima (IAF crítico) y también de la duración del área foliar verde. Determinados factores ambientales, como el déficit hídrico y la baja disponibilidad de nutrientes pueden reducir la expansión de las hojas (Muchow, 1994) afectando este proceso.

Hay una amplia y altamente heredable variación genética para el ángulo de inserción de la hoja en maíz (Lafitte, 2001). Los estudios de simulación indican que hojas superiores erectas combinadas con hojas horizontales inferiores dan lugar a una mayor captación de radiación por parte del canopeo (Pearson and Hall, 1984). Las hojas erectas por encima de la espiga permiten una mayor iluminación de las hojas que la rodean, obteniendo un beneficio adicional de esta arquitectura foliar. La intercepción de luz de las hojas inferiores es importante para la continua absorción de nutrientes durante la etapa de llenado de los granos y también es favorecida por la arquitectura de hojas erectas en la parte superior de la planta.

El rendimiento en maíz depende de la cantidad de biomasa que se distribuye al grano. Esto se refleja en el índice de cosecha (IC) que es la masa de granos como proporción del total de biomasa que el cultivo tiene sobre la tierra. El IC de los maíces de zona templada ya era alto en los materiales cultivados en el año 1930 (cerca de 0,45) por lo que el mejoramiento posterior se ha obtenido sobre todo por el incremento de la biomasa y no del IC (Lafitte, 2001).

1.1.6. FACTORES QUE DETERMINAN LA PRODUCTIVIDAD EN MAÍZ

El rendimiento de los cultivos está determinado por su potencial genético y el impacto del ambiente sobre su capacidad de crecimiento y partición de materia seca hacia destinos reproductivos (Andrade *et al.*, 1996). El rendimiento por unidad de superficie está condicionado por el número de individuos capaces de producir rendimiento en grano. La biomasa producida por cada individuo refleja la disponibilidad de recursos durante la estación de crecimiento y se asocia con el rendimiento.

Los rendimientos de maíz crecieron en forma sostenida en las últimas décadas. La notable mejora genética lograda fue en buena medida responsable de ese crecimiento, acompañada por mejoras en el manejo de los cultivos (fertilización, herbicidas, mecanización). No obstante, los rendimientos medios que se alcanzan actualmente están aún distantes de los rendimientos máximos obtenibles (Salvagiotti, 2009). Estas brechas entre los rendimientos reales y los potenciales pueden reducirse a partir de un mejor entendimiento de los procesos y mecanismos involucrados en la determinación del rendimiento del cultivo. Al aplicar la máxima tecnología disponible, la limitante para alcanzar los rendimientos potenciales la imponen factores ambientales no controlables como son la radiación solar y la temperatura (Muchow *et al.*, 1990).

Al igual que en la mayoría de los cultivos, en maíz existe una estrecha relación entre el rendimiento y la producción de biomasa aérea, la cual depende a su vez de la cantidad de radiación solar disponible, de la capacidad del canopeo para interceptarla y de la eficiencia con que el cultivo convierte la radiación capturada en biomasa vegetal, siempre y cuando no existan limitaciones hídricas, nutricionales o sanitarias (Cirilo *et al.*, 2012).

La producción de fotoasimilados de un cultivo puede ser expresada en términos de su eficiencia para aprovechar la radiación solar incidente en la producción de biomasa:

$$B = R_{inc} * e_i * EUR \quad (1)$$

donde B: biomasa del cultivo ($g \cdot m^{-2}$); R_{inc} : radiación incidente ($MJ \cdot m^{-2}$); e_i : eficiencia de interceptación de la radiación (fracción de 1); EUR: eficiencia en el uso de la radiación ($g \cdot MJ^{-1}$) (Andrade *et al.*, 1996; Cárcova *et al.*, 2003).

El rendimiento en maíz esta predominantemente asociado con el número de granos por unidad de superficie en la cosecha, variando más que el peso del grano en respuesta a las fluctuaciones de las condiciones ambientales. Por lo tanto, el entendimiento de los mecanismos

que determinan aquel factor puede ser muy importante para el mejoramiento (Andrade *et al.*, 2000). El periodo que rodea a la floración, conocido como periodo crítico, es cuando el número de granos fijados es más susceptible a un estrés, por lo tanto el estado fisiológico del cultivo en este estadio es primordial para el fijado de granos. El número de granos fijados es más afectado por las condiciones ambientales que por el número de espiguillas diferenciadas (Otegui, 1995) y por el grado de diferenciación floral alcanzado por estas, por lo tanto, las condiciones desfavorables en este periodo pueden causar una reducción en el número viable de granos por espiga (Cirilo and Andrade, 1994). Esta disminución en el crecimiento de los granos está relacionado con una disminución en la oferta de asimilados para los granos en desarrollo. Además, se ha observado que la radiación fotosintéticamente activa interceptada (RFAI) por el cultivo en el periodo crítico, o cercano a la floración femenina, es una variable determinante del número de granos (Andrade *et al.*, 2000), existiendo un valor umbral de RFAI y de la tasa de crecimiento por planta (Andrade *et al.*, 1999) por debajo del cual la planta no puede fijar granos. Varios autores establecieron que existe una relación curvilínea entre estos factores, que hace que también por encima de un determinado valor de RFAI y de la tasa de crecimiento de la planta no se produzcan más aumentos en el número de granos debido a la limitada capacidad intrínseca de la planta para fijar granos (Andrade *et al.*, 1999, 2000). Además de los factores mencionados anteriormente, la duración del periodo crítico para el fijado de granos también afecta el rendimiento. Cantarero *et al.* (1999) observaron que el incremento de la temperatura nocturna no afectó la tasa de crecimiento, pero redujo el fijado de granos debido a una menor duración del periodo crítico. Esto es debido a que las mayores temperaturas nocturnas acortan la duración de la etapa y disminuyen la cantidad de días para interceptar la radiación incidente durante el periodo crítico afectando la cantidad de energía disponible para el fijado de granos.

1.1.6.1. RADIACIÓN INCIDENTE

La radiación incidente varía con la ubicación geográfica (latitud) y con la época del año, y ciertas prácticas de cultivo como la elección de la fecha de siembra y la duración del ciclo del genotipo permiten maximizar su aprovechamiento. De la radiación total incidente, solo la fracción fotosintéticamente activa (RFA) del espectro visible (ubicada entre 400 y 740 nm) es aprovechada por el cultivo (Cárcova *et al.*, 2003). Basado en el espectro solar promedio medido en la superficie de la Tierra, la proporción de energía solar total dentro de la banda fotosintéticamente activa es

de un 48,7 %, por lo tanto menos de la mitad de la radiación solar incidente está disponible para la fotosíntesis de las plantas superiores (Zhu *et al.*, 2008).

La fijación de dióxido de carbono por las plantas responde a las fluctuaciones en la densidad del flujo de fotones fotosintéticos (DFFF) y la producción de materia seca depende de la habilidad para la utilización de la luz. Este comportamiento es dependiente principalmente del IAF y también del arreglo espacial de las hojas en el canopeo, la morfología y la anatomía de estas, la elevación del sol, los cambios en la calidad y en la reflectividad de la DFFF dentro del canopeo (Aquino Portes and Cabral de Melo, 2014). Cuando el FFF penetra en el canopeo, disminuye de manera exponencial, dependiendo del número de hojas, por lo tanto, la fotosíntesis va a depender tanto de la DFFF absorbido por las hojas y de su distribución en el canopeo. A su vez, los cambios en el IAF son dependientes de diversos factores, como las condiciones climáticas y la disponibilidad de agua y nutrientes.

1.1.6.2. INTERCEPCIÓN DE LA RADIACIÓN

La cantidad de radiación absorbida por el cultivo de maíz varía en función de la eficiencia de intercepción del canopeo, la cual está relacionada con el área foliar del mismo y el coeficiente de extinción de la luz (k), el cual depende de la estructura del canopeo en lo que se refiere a la cantidad, forma e inclinación de las hojas (Bergamaschi *et al.*, 2010) y describe la atenuación de la luz como una función del índice de área foliar. Las alteraciones en el coeficiente de extinción para un valor dado de IAF promueven alteraciones en la radiación solar interceptada y en la eficiencia de conversión de la misma en biomasa y, por lo tanto, en la acumulación de esta última (Lindquist *et al.*, 2005).

En general, se acepta que la proporción de RFA interceptada por un canopeo se relaciona con el IAF a través de la siguiente función de tipo exponencial:

$$fRFAI = a (1 - e^{-k \cdot IAF}) \quad (2)$$

donde $fRFAI$: fracción de RFA interceptada por el canopeo; a : valor del “plateau” o techo; k : coeficiente de extinción; IAF: índice de área foliar (Maddonni and Otegui, 1996).

Los dos procesos claves en la instalación del canopeo son la elongación del tallo y el despliegue de las hojas, los cuales afectan la distribución vertical del área foliar, la intercepción de la luz y la eficiencia en el uso de la radiación (Birch *et al.*, 2006). Las reducciones en el área

foliar reducen la intercepción de luz y el crecimiento, disminuyendo en última instancia el rendimiento.

1.1.6.2.1. ARQUITECTURA DEL CANOPEO

El índice de área foliar, el ángulo de inserción vertical de las hojas sobre el tallo y la orientación de las hojas en el espacio son los parámetros principales que caracterizan al canopeo de un cultivo (Liu *et al.*, 2011). Estos atributos son afectados por determinadas prácticas agronómicas, como el espaciamiento entre surcos, la densidad de siembra y la elección del genotipo. .

El número de hojas y la proporción de hojas por encima y por debajo de la espiga, son dos factores que influyen en la arquitectura del canopeo. Una proporción óptima de hojas por debajo y por encima de la espiga es importante para el desarrollo de una arquitectura de planta apropiada para aumentar la eficiencia fotosintética (Li *et al.*, 2016a). El número total de hojas producido por las plantas es definido por la transición floral del meristema apical (McSteen *et al.*, 2000). Varios mutantes de maíz con transición floral retrasada han sido caracterizados y todos producen un mayor número de hojas con respecto a los genotipos normales (Subedi and Ma, 2005).

El canopeo es una estructura compleja resultante de un determinado arreglo espacial de las hojas de los individuos de un cultivo. Actúa como captador de la radiación y su estructura ejerce influencia sobre la temperatura y la concentración de vapor de agua en el ambiente que rodea a la planta, afectando los procesos de fotosíntesis, transpiración y crecimiento (Montemayor Trejo *et al.*, 2006). La penetración y atenuación de la luz en el cultivo de maíz, en altas densidades de siembra, depende de la arquitectura del canopeo y es uno de los factores más importantes que afecta la productividad. Las prácticas de cultivo orientadas a mejorar la intercepción de radiación (manipulando la densidad de siembra y el espaciamiento entre surcos) afectan la arquitectura del canopeo al modificar el tamaño de las hojas, su orientación e inserción en el tallo y la senescencia de las mismas (Maddonni *et al.*, 2001). En altas densidades de siembra, una disposición foliar más erectófila puede incrementar la tasa de crecimiento del cultivo y la eficiencia en el uso de la radiación debido a una distribución lumínica más homogénea entre los diferentes estratos foliares (Duncan *et al.*, 1967).

La eficiencia de intercepción de la luz por parte del canopeo es uno de los factores más importantes a tener en cuenta para mejorar la producción, la cual se ve incrementada a través de mayores densidades de siembra. El cambio espacial y temporal del ángulo de las hojas, el cual afecta la habilidad de la planta para sobrevivir, capturar luz y reproducirse (Ku *et al.*, 2011) es un

factor importante que influye sobre aquella eficiencia. La importancia de estos factores en la producción actual de maíz es confirmada por las modificaciones que han ocurrido en la arquitectura de la planta, producto de los últimos 50 años de mejoramiento, con la aparición de canopeos con hojas más erectas (Duvick, 2005) y una reducción en el tamaño de la panoja (Fischer and Edmeades, 2010). La distribución del área foliar y el ángulo de inserción foliar determinan la eficiencia en la intercepción de la radiación fotosintéticamente activa y por lo tanto influyen en la fotosíntesis del canopeo y en la producción (Ku *et al.*, 2012).

Tanto en modelos de simulación (Duncan, 1971) como en experimentos de campo (Pepper *et al.*, 1977) se ha demostrado que los híbridos con hojas orientadas más verticalmente poseen ventajas de producción. Por lo tanto, una apropiada arquitectura de la hoja influye en la morfología del canopeo y permite un aumento en la captura de la luz mediante la fotosíntesis, actuando como reservorio de nitrógeno para el llenado del grano y a su vez permitiendo una mayor densidad de siembra con un mayor índice de área foliar (Sinclair and Sheehy, 1999), todos ellos factores que aumentan la producción. El patrón de hojas verticales en la parte superior y horizontales en la parte inferior del canopeo permite que las hojas superiores intercepten menos radiación y dejen pasar más luz hacia las hojas inferiores, logrando una distribución de la radiación más equilibrada sobre el total del área foliar. Por lo tanto, el ángulo de inserción de las hojas podría ser una de las muchas características consideradas en un programa de mejoramiento (Montemayor Trejo *et al.*, 2006). El mejoramiento de maíz con una arquitectura de hoja optimizada diseñada para altas densidades de siembra es una de las estrategias para aumentar la productividad de este cultivo (Ku *et al.*, 2010).

1.1.6.2.2. ARQUITECTURA DE LA PLANTA

La arquitectura de la planta es un carácter complejo que depende principalmente de su altura, la ubicación del nudo de inserción de la espiga, el número y la longitud de los entrenudos del tallo. La producción de biomasa y el rendimiento de grano dependen de la arquitectura de planta debido a que sus componentes reflejan la conformación espacial del canopeo y condicionan la capacidad de intercepción de la radiación y la tolerancia al estrés asociado a situaciones de una alta densidad de plantas. Para variedades específicas de maíz, la altura de planta bajo ciertas circunstancias podría estar asociada con un mayor número de entrenudos y una menor altura de la espiga, logrando una resistencia mayor al vuelco (Zhou *et al.*, 2016). Por lo tanto, durante el

desarrollo de cultivares para el mejoramiento de maíz es necesario optimizar estos componentes de la arquitectura de la planta para evitar pérdidas en el rendimiento.

La longitud de los entrenudos es uno de los caracteres importantes que condiciona a la arquitectura de planta, dado que afecta a la altura total y la altura de inserción de la espiga. Cierta homogeneidad en la longitud de los diferentes entrenudos, principalmente por encima de la espiga, contribuye a optimizar la arquitectura de canopeo óptima, la eficiencia fotosintética y el rendimiento (Ku *et al.*, 2015).

El acortamiento de los entrenudos por debajo de la espiga aumenta la resistencia mecánica al vuelco (Cao *et al.*, 2006; Lu *et al.*, 2008). Además, se ha observado que el incremento en la longitud de los entrenudos alrededor de la espiga mejora la diferenciación de las mismas, resultando en espigas de mayor longitud y con mayor peso del grano (Cao *et al.*, 2006). Por otra parte, el incremento en los entrenudos por encima de la espiga mejora la ventilación y la penetración de la luz en el canopeo y aumenta la fotosíntesis en los estratos medios e inferiores de las hojas así como la eficiencia en la utilización de la radiación de la planta completa (Guo *et al.*, 2005).

1.1.6.3. SENESCENCIA

Este proceso es una fase terminal en el desarrollo de cada órgano, que incluye a las hojas, los tallos, las flores y los frutos. Está influido por perturbaciones ambientales o endógenas que activan o aceleran las diferentes etapas del mismo, que son la iniciación, degeneración y la fase terminal (Noodén *et al.*, 1997). En maíz, comienza antes que las hojas estén completamente desplegadas, previo a la floración y progresa a una tasa mayor durante el periodo de llenado de granos (Borras *et al.*, 2003). Se ha visto que la duración del área foliar verde depende de la disponibilidad de asimilados para sostener el crecimiento de los granos durante el periodo de postfloración. El perfil vertical de la senescencia foliar en esta especie se caracteriza por la aparición inicial de los síntomas en las hojas basales, los cuales avanzan en dirección acrópeta. Posteriormente, durante el llenado de granos, las hojas más apicales comienzan a senescer y la aparición de los síntomas prosigue en dirección basípeta. De esta manera, ocurre un proceso de muerte simultánea de hojas en dirección acrópeta y basípeta en la planta, el cual finaliza con las hojas centrales, cercanas a la espiga (Valentinuz y Tollenaar, 2004).

Thomas (1992) propuso que la senescencia es activada tanto por una disminución como por un exceso de asimilados en la planta y definió un valor de disponibilidad de asimilados entre

dos umbrales, superior e inferior, en los cuales la senescencia no se activa. Rajcan y Tollenaar (1999) establecieron una relación fuente-destino óptima que maximiza la duración del área foliar verde. Cuando esta relación se encuentra por debajo de un valor umbral, la demanda de nitrógeno por los granos en crecimiento genera una deficiencia de nutrientes lo cual acelera la senescencia, debido a la removilización de nitrógeno desde las estructuras vegetativas hacia las reproductivas. En cambio, una relación fuente-destino alta activa la senescencia en respuesta a la acumulación de carbohidratos no estructurales, generando una inhibición de la fotosíntesis. La densidad de siembra afecta aquella relación fuente-destino a través de su efecto sobre el área foliar por planta, la cantidad de luz interceptada por las mismas y el número de granos por planta. Todos estos atributos disminuyen en respuesta al aumento de la densidad (Maddonni *et al.*, 2001). El efecto de este factor sobre la senescencia está relacionado con la distribución de la luz dentro del canopeo. El maíz cultivado a altas densidades de siembra muestra una mayor atenuación de la luz dentro de los diferentes estratos foliares y esto afecta el perfil vertical del contenido de nitrógeno foliar en el cultivo (Borras *et al.*, 2003).

1.1.7. MEJORAMIENTO GENÉTICO DE MAÍZ

Un factor clave en los aumentos de rendimiento a lo largo de los años ha sido la densidad de siembra, dado que el rendimiento aumentó más rápidamente a altas densidades. Junto a este incremento en el rendimiento se han observado cambios en varios caracteres de la planta y determinantes fisiológicos. Duvick *et al* (2004) reportaron que en Estados Unidos, los avances en el rendimiento estuvieron asociados con un incremento en el número de espigas cada 100 plantas, una disminución en el ángulo vertical de inserción foliar, un aumento de la duración del área foliar verde en postfloración, una disminución en el intervalo antesis-silking (ASI) y una disminución en el tamaño de la panoja, pero no han observado cambios en el índice de cosecha. El aumento en la biomasa total acumulada debido a una tasa de fotosíntesis alta durante el llenado de los granos y una mayor partición de asimilados durante el periodo de fijación de granos han sido los determinantes fisiológicos más importantes del aumento en el rendimiento (Tollenaar and Lee, 2006). Los efectos de la partición de asimilados son reflejados en un mayor número de granos por unidad de área debido a una menor proporción de plantas estériles, más que por un mayor número de granos por espiga.

En Estados Unidos, el rendimiento en granos de maíz aumentó desde aproximadamente 1300 kg.ha⁻¹ en 1939 hasta 7800 kg.ha⁻¹ en 2005, a una tasa aproximada de 99 kg.ha⁻¹.año⁻¹.

Este incremento fue acompañado por un aumento en la tolerancia al estrés abiótico. Esta mayor tolerancia al estrés ha logrado que se mantenga un balance equilibrado en la relación fuente-destino, dado que el efecto del estrés sobre el cultivo es generar un desbalance en esta relación (Lee and Tollenaar, 2007). Sin embargo, estos incrementos en el rendimiento no se deben solamente al mejoramiento genético, dado que han ocurrido cambios en las prácticas agronómicas durante los últimos 70 años, que en combinación con el mejoramiento han contribuido al progreso total del rendimiento.

El rendimiento de los híbridos de maíz en Estados Unidos, liberados en 1930 y 1990, no difería cuando se los cultivaba en un ambiente de baja densidad de siembra, en el que la competencia por la radiación solar incidente, los nutrientes y el agua es mínima (Duvick, 1997). Pero al aumentar la densidad de siembra el rendimiento por unidad de área aumentaba en un 160% en los híbridos liberados en 1990, mientras que en los híbridos de 1930 permanecía constante. Por lo tanto, la disminución en el rendimiento por planta al aumentar la densidad y, por lo tanto, la competencia entre plantas, fue mucho menor en los híbridos liberados en 1990 con respecto a los de 1930 en condiciones de recursos limitantes.

Durante los años en los que se efectuó el mejoramiento de maíz se ha observado un aumento en la acumulación de materia seca, como resultado de cambios en la intercepción de luz, debido a un mayor índice de área foliar, cambios en la eficiencia en el uso de la radiación debido a hojas más erectófilas y una mayor persistencia del área foliar verde y de la fotosíntesis durante el periodo de llenado de granos.

El incremento en la tolerancia a las altas densidades de siembra ha permitido el aumento del IAF desde 2,4 m².m⁻² en 1930 hasta 4,8 m².m⁻² en el año 2000. Este incremento se ha traducido en aumentos de aproximadamente un 20% en la intercepción de luz (Duvick *et al.*, 2004). Varios genes con efecto sobre la longitud y el ancho de la hoja, los cuales determinan el área foliar, fueron identificados (Li *et al.*, 2015). El efecto de un mayor índice de área foliar sobre la intercepción de luz es compensado, en parte, por un ángulo de inserción foliar más erectófilo. La combinación de un índice de área foliar mayor y un ángulo de inserción foliar erectófilo ha resultado en un incremento de 14%, aproximadamente, en la capacidad de intercepción de luz de los híbridos modernos (Duvick *et al.*, 2004).

En Argentina, la mayor parte de la producción de maíz se lleva a cabo en climas templados y se cultivan híbridos con una madurez relativa de 118 a 124 aproximadamente (Luque *et al.*, 2006). En los últimos 38 años de mejoramiento se ha obtenido una ganancia genética de 105 kg.ha⁻¹.año⁻¹ entre 1979 y 1992 (Eyhérabide *et al.*, 1992) y de 249 kg.ha⁻¹.año⁻¹ entre 1988 y 1998

(Eyhérbide and Damilano, 2001). Este último incremento durante la segunda década probablemente se asocia con la introducción de los híbridos simples en el país durante los años '90. Por su parte, Luque *et al* (2006) determinaron una ganancia genética de 132 kg.ha⁻¹.año⁻¹ en un experimento de dos años con siete híbridos que comprendió el período 1965-1997 en la Estación Experimental Agropecuaria INTA Pergamino. Diversos estudios sugieren que los híbridos nuevos liberados en nuestro país poseen una mayor producción de biomasa (Andrade *et al.*, 1996), un mayor índice de cosecha (Echarte and Andrade, 2003) y un mayor número de granos por planta por unidad de tasa de crecimiento (Echarte *et al.*, 2004). Esto último significa que poseen una tasa de crecimiento umbral menor para comenzar a fijar granos y producen un número de granos potenciales mayor en condiciones de alta disponibilidad de recursos por planta. Una mayor partición de materia seca a la espiga y una eficiencia mayor en el fijado de granos por unidad de tasa de crecimiento de la espiga durante el período crítico son los procesos fisiológicos que contribuyeron a un mayor número de granos por planta por unidad de tasa de crecimiento de la planta (Vega *et al.*, 2001). Luque *et al* (2006) determinaron que el mejoramiento en maíz logró aumentar la tasa de crecimiento del rendimiento en grano en respuesta a altas densidades de siembra y también en condiciones potenciales (rendimiento por planta), de manera contraria a lo ocurrido en Estados Unidos, donde no se detectó un mejoramiento en el rendimiento potencial en condiciones de bajas densidades de siembra. Además, estos autores observaron que el mayor número de granos estuvo correlacionado con una mayor producción de biomasa en postfloración. También observaron una ganancia genética en el índice de cosecha, debido al mejoramiento en condiciones potenciales y una menor disminución en respuesta a un aumento en la densidad de plantas. Este incremento en el índice de cosecha estuvo asociado principalmente a un mayor incremento en los componentes numéricos del rendimiento (número de granos y peso del grano) con respecto a la biomasa aérea (Echarte *et al.*, 2013). A su vez, reportaron una mayor fuente de asimilados durante el llenado de granos como consecuencia de una mayor intercepción de la RFA debido a una mayor persistencia del área foliar verde.

Los mayores rendimientos de los híbridos nuevos podrían ser el resultado de un incremento en la captura y en el uso de los recursos. En condiciones no limitantes, el rendimiento puede ser expresado como el resultado del producto de la radiación interceptada, la eficiencia en el uso de la radiación para la producción de biomasa y el índice de cosecha (Echarte *et al.*, 2013). Luque *et al* (2006) reportaron un incremento en la radiación interceptada acumulada para los híbridos de Argentina liberados entre 1965 y 1977, el cual fue atribuible principalmente a una mayor intercepción durante el periodo de llenado de granos.

1.1.7.1. MEJORAMIENTO DE LA INTERCEPCIÓN DE LA RADIACIÓN EN MAÍZ

El aprovechamiento de la variabilidad genética existente dentro de una especie en términos de índice de área foliar, arquitectura del canopeo y proporción de la radiación incidente que intercepta el cultivo, representa una oportunidad para los programas de mejoramiento orientados a aumentar el rendimiento. En maíz, el mejoramiento genético de la eficiencia en la captación de luz depende del mejoramiento de sus características componentes, tales como la duración del área foliar verde, el ángulo de inserción foliar y el índice de área foliar.

Como resultado de la selección, en los últimos años se han obtenido híbridos que poseen una tasa de crecimiento mayor, debido a una mayor eficiencia en el uso de la radiación, principalmente durante el período de llenado de granos, debido a un mayor IAF, mayor duración del área foliar verde y hojas con un ángulo de inserción más erecto (Fischer and Edmeades, 2010). Sin embargo, estos incrementos en características fisiológicas no se han producido como resultado del mejoramiento dirigido a las mismas, sino como respuesta indirecta a la selección por rendimiento de grano.

El mejoramiento genético en el carácter *stay green* ha sido efectuado en los últimos 70 años en Estados Unidos. Estos genotipos se caracterizan por poseer un retraso en el comienzo de la senescencia y un mantenimiento del área foliar verde durante el periodo de llenado de granos (Lee and Tollenaar, 2007). Jiang *et al* (2004) establecieron una clasificación para los genotipos *stay-green* en dos grupos: *stay-green* funcionales y no funcionales. Los genotipos funcionales han recibido mucha atención debido a su capacidad fotosintética incrementada en el estadio final del crecimiento de la planta y la consecuente mayor producción de granos, mientras que los genotipos no funcionales se caracterizan por carecer de actividad fotosintética aunque las hojas permanecen verdes en el estadio final del desarrollo. El mejoramiento genético y la selección de genotipos *stay green* funcionales es evidente por la menor disminución de la fotosíntesis durante el periodo de llenado de granos de los híbridos modernos con respecto a los anteriores (Tollenaar *et al.*, 2000).

El mejoramiento en el ángulo de inserción foliar se ha efectuado a lo largo de los últimos años en Estados Unidos como resultado de la selección de materiales que mostraban un alto rendimiento en condiciones de alta densidad de siembra. Como resultado de esta selección se obtuvieron híbridos con un ángulo de inserción foliar más erectófilo, principalmente en las hojas que se encuentran por encima de la espiga (Duvick, 2005). En cambio, en nuestro país, no se observó un cambio significativo en el ángulo de inserción foliar, dado que no se detectaron

cambios en el coeficiente de atenuación de la luz ni en la distribución de la luz en el canopeo durante los últimos años de mejoramiento (Echarte *et al.*, 2013). Varios grupos de investigación han identificado genes que controlan este carácter. Ku *et al* (2011) clonaron el gen *ZmTAC1* presente en el cromosoma 2, ortólogo de *OsTAC1* de arroz y confirmaron que este afecta el ángulo de inserción foliar. Observaron que los cambios en su patrón de expresión ocasionaban modificaciones en el ángulo de inserción en las líneas experimentales con las que realizaron el estudio. Los máximos picos de expresión llevaban a la aparición de fenotipos con hojas más expandidas e identificaron una mutación de un solo nucleótido en la región 5'-UTR (región 5' no traducida) de este gen, la cual afectaba el patrón de expresión y era responsable de los cambios en el ángulo de inserción entre las líneas con hojas erectas y expandidas.

Ku *et al* (2012) encontraron que los genes *liguleless1 (lg1)* y *liguleless2 (lg2)*, cuyos mutantes se conoce que afectan el ángulo de inserción foliar en maíz, estaban localizados en un intervalo correspondiente a QTLs identificados sobre los cromosomas 2 y 3. Los mutantes *lg1* no poseen lígula, lo cual ocasiona un fenotipo con hojas más erectas, mientras que los individuos con mutaciones en el gen *lg2* muestran un aumento en la producción de granos en híbridos de maíz (Pendleton *et al.*, 1968; Lambert and Johnson, 1978). El gen *lg1* codifica para una proteína localizada en el núcleo involucrada en la inducción de la lígula y la aurícula. La expresión de este gen es requerida para la formación de estas estructuras y cuando no se expresa la ausencia de estas hace que las hojas muestren un hábito más erectófilo (Moreno *et al.*, 1997). El gen *lg2* codifica para un factor de transcripción que se expresa en el meristema y en la lígula en desarrollo y se ha observado que la acumulación de ARN mensajero correspondiente a este gen precede a la acumulación del transcripto correspondiente al gen *lg1* (Walsh *et al.*, 1997) y que estos genes actúan en un circuito común de acción (Harper and Freeling, 1996). Otro de los genes candidatos que estos autores reportaron que se encontraba dentro de un intervalo de un QTL es el gen *dwarf4* en el cromosoma 1, afectando el ángulo de inserción de las hojas. En arroz, este gen ocasiona fenotipos con leve enanismo y hojas erectas (Sakamoto *et al.*, 2006). Además, identificaron el gen *kan3* en un intervalo correspondiente a un QTL en el cromosoma 1, que también afecta el ángulo de inserción. Este gen pertenece a una familia de factores de transcripción y promueven la identidad abaxial tanto en especies dicotiledóneas como en maíz (Kerstetter *et al.*, 2001).

Kong *et al* (2017) mostraron que la aurícula, la cual forma parte de la región ligular de la hoja, es una estructura fundamental para la determinación del ángulo de inserción foliar. La región ligular está formada por la vena media, la aurícula y la lígula y su función es unir la vaina de la

hoja con la lámina. Estos autores detectaron una correlación positiva entre el ángulo de inserción foliar y el ángulo formado por la aurícula en la región ligular, además de una correlación positiva entre el ángulo de la hoja con el tamaño de esta estructura. Mediante análisis de expresión identificaron varios genes asociados con la división celular durante el desarrollo de esta estructura y observaron que las diferencias en el ángulo de inserción foliar se debían a una expresión diferencial de estos genes. A su vez, detectaron genes que codifican para enzimas que actúan durante el proceso de elongación celular, tales como glicosil hidrolasas y expansinas, que mostraban una elevada expresión durante el estadio medio de desarrollo de la aurícula. Estos autores concluyeron en que una regulación diferencial de la división y elongación celular durante el desarrollo de la aurícula puede producir diferencias en el ángulo de inserción foliar.

El IAF es otro rasgo asociado a la captura de luz que ha estado sujeto a mejoramiento durante los últimos años. Como resultado de esto, se obtuvieron híbridos que poseen un mayor IAF, pero no debido a un aumento en sus características componentes (área foliar por planta), sino a causa de un aumento en las densidades de siembra. De hecho, tanto el número de hojas por planta como el tamaño de las mismas no han sido modificados significativamente (Duvick, 2005).

Al seleccionar genotipos con una arquitectura foliar, de raíz, del tallo y de la espiga adecuada, se podrían obtener genotipos con una arquitectura de planta ideal que podrían maximizar la captura y el uso de la energía solar en todos los estadios de crecimiento y maximizar el rendimiento por unidad de área (Ku *et al.*, 2015).

En maíz, la mayor parte de la investigación sobre los determinantes fisiológicos del rendimiento, como captura de luz, eficiencia en el uso de la radiación y partición de biomasa ha sido realizada en híbridos, siendo más escaso el conocimiento al respecto para otro tipo de filiales. En líneas endocriadas es menor la disponibilidad de información para los atributos mencionados, mucho menos en lo que hace a una población generada con fines de mapeo molecular a partir de germoplasma desarrollado localmente (D'Andrea *et al.*, 2006, 2009, 2013, 2016; Mirabilio *et al.*, 2010; Munaro *et al.*, 2011a, 2011b; Amelong *et al.*, 2015).

La identificación de *loci* de caracteres cuantitativos (QTL) mediante marcadores moleculares podría ampliar el conocimiento de las bases genéticas que controlan la variación de los caracteres asociados a la captación de luz en maíz. El empleo de marcadores moleculares y las plataformas genómicas ofrecen oportunidades para descubrir, seleccionar y clonar QTLs que controlan los componentes importantes de la arquitectura del canopeo en maíz.

1.2. MAPEO DE QTLs

La mayoría de los caracteres de importancia agronómica y económica son controlados por la expresión de muchos genes, cada uno de los cuales tienen un efecto sobre el valor fenotípico final del mismo. A estos caracteres se los denomina cuantitativos dado que poseen una distribución continua y no son clasificados en clases discretas como los caracteres cualitativos. Estos poseen una herencia compleja que incluye efectos y variancias de aditividad, dominancia, epistasis, ligamiento y de interacción entre los efectos genéticos y ambientales (Hallauer *et al.*, 2010).

Las regiones genómicas que contienen genes asociados con una característica cuantitativa se conocen como *loci* de caracteres cuantitativos (QTLs) (Doerge, 2002). El mapeo de QTLs es un proceso mediante el cual se pueden identificar y localizar esas regiones genómicas. Este método hace uso de marcadores moleculares, que representan sitios de variación en el genoma, ligados o asociados a los QTLs de interés.

El principio en el que se fundamenta el mapeo de QTLs es que si una determinada región cromosómica que influye en un carácter está ligada al locus de un marcador, habrá una diferencia en los valores medios de la característica cuantitativa entre los individuos con diferentes genotipos en el locus del marcador (Mackay, 2001). Cuanto menor sea la distancia entre el QTL y el marcador (mayor ligamiento entre ambos) mayor será la diferencia fenotípica entre los individuos con diferentes genotipos del marcador o la correlación entre la presencia de un alelo para el marcador y un efecto medible en el carácter cuantitativo.

El análisis de QTLs consiste básicamente en detectar asociaciones entre el valor fenotípico y el genotipo de los marcadores. Estos últimos son utilizados para particionar la población de mapeo en diferentes grupos genotípicos basado en la presencia o ausencia de un marcador en el locus particular y determinar si existe una diferencia significativa entre grupos con respecto al carácter que está siendo evaluado (Tanksley, 1993).

El mapeo de QTLs requiere la obtención de una población de mapeo, la evaluación fenotípica de los caracteres de interés en la misma, y genotípica mediante el empleo de marcadores moleculares.

1.2.1. POBLACIONES DE MAPEO

Las poblaciones más simples de obtener para el mapeo de QTLs son las F_2 , provenientes de híbridos F_1 , entre líneas estabilizadas o con alto nivel de homocigosis, o las poblaciones de retrocruza, derivadas del cruzamiento entre el híbrido F_1 y una u otra de sus líneas parentales. La principal ventaja de estas poblaciones es que son simples de construir y requieren relativamente poco tiempo en comparación con otras poblaciones como las líneas endocriadas recombinantes (RIL), resultante de sucesivas generaciones de autofecundaciones (usualmente 6 a 8 desde la F_1) al azar. Otra forma más rápida de obtener una colección de RILs, es hacerlo mediante la formación de haploides duplicados (DH). Para ello es un requisito que exista un procedimiento eficiente de producción de dobles haploides, lo cual depende de las especies.

La endocría hasta homocigosis de cada una de las familias F_2 permite la obtención de las RILs, las cuales poseen altos niveles de endocría que dependen de cuál es la generación de autofecundación a partir de la cual son multiplicadas en masa o bulk, o bien son completamente homocigotas cuando se generan por el método de duplicación de haploides. Cada RIL posee una combinación única de segmentos cromosómicos de las líneas parentales inicialmente empleadas. Al incrementar la frecuencia de homocigosis aumenta la proporción de genotipos homocigotas y la contribución de los efectos aditivos, incrementando la posibilidad de detectar los QTLs que están asociados a una característica dada. Si bien la principal desventaja de estas poblaciones es el tiempo requerido para su obtención (6 a 8 generaciones), poseen la ventaja de que pueden ser multiplicadas y reproducidas sin que ocurra un cambio genético en estas. El hecho de que para desarrollar las RILs se requieren varias generaciones y por lo tanto divisiones meióticas y eventos de entrecruzamiento cromosómico antes de alcanzar la homocigosis casi completa, hace que los genes ligados tengan una mayor probabilidad de recombinarse y es mayor la probabilidad de detectar recombinación entre dos marcadores ligados. Así también, las distancias en un mapa de ligamiento pueden ser estimadas de manera más precisa en comparación con otras poblaciones (Burr and Burr, 1991).

1.2.2. MARCADORES MOLECULARES

Para llevar a cabo la caracterización genotípica de la población de mapeo es necesario el empleo de marcadores moleculares. El polimorfismo en estos surge debido a mutaciones puntuales,

inserciones o deleciones y a errores durante la replicación del ADN repetido en tándem (Paterson, 1996).

Los marcadores moleculares SSR (Repeticiones de Secuencia Simple) consisten en secuencias cortas de 2 a 5 pares de bases repetidas en tándem y flanqueadas por regiones conservadas, siendo las más abundantes las repeticiones de dinucleótidos (Gupta *et al.*, 1996) y trinucleótidos (Chin *et al.*, 1996). Estos marcadores pueden ser amplificados mediante la técnica de PCR, que utiliza secuencias específicas que reconocen a las regiones flanqueantes.

Una ventaja de estos marcadores es que tienen expresión co-dominante y son multialélicos, por lo que poseen un gran nivel de polimorfismo (Matsuoka *et al.*, 2002). Además son muy frecuentes y están distribuidos al azar en todo el genoma, siendo su ubicación cromosómica conocida en maíz (<http://www.maizegdb.org>).

1.2.3. MAPAS DE LIGAMIENTO

Todos los métodos de mapeo de QTLs, excepto el método por marcador simple, requieren de la construcción previa de un mapa de ligamiento. Estos mapas indican las posiciones y las distancias genéticas relativas entre marcadores a lo largo del cromosoma. Sobre estos se identifican las localizaciones cromosómicas que contienen a los QTLs asociados a caracteres de interés (Collard *et al.*, 2005). El principio de construcción de un mapa de ligamiento está basado en que los genes y los marcadores pueden segregarse debido a la recombinación cromosómica, o *crossing over*, durante la meiosis. Los genes y marcadores que se encuentran físicamente más cerca sobre el cromosoma serán transmitidos juntos a la progenie más frecuentemente que los que están localizados más distantes entre sí.

En una población segregante, hay una combinación de genotipos parentales y recombinantes. La frecuencia de estos últimos puede utilizarse para calcular las fracciones de recombinación, las cuales pueden emplearse para inferir la distancia genética entre los marcadores. Para convertir las frecuencias de recombinación en unidades de distancia o unidades de mapeo (centi Morgans) se emplean las funciones de mapeo. Esta conversión se realiza debido a que la distancia de mapeo y la frecuencia de *crossing over* no están linealmente relacionadas (Collard *et al.*, 2005). Las dos funciones de mapeo más utilizadas son la de Kosambi (Kosambi, 1944), la cual asume que los eventos de recombinación influyen en la ocurrencia de un evento de recombinación adyacente y la de Haldane (Haldane, 1919), la cual asume que no existe interferencia entre eventos de *crossing over* adyacentes. Las distancias sobre un mapa de

ligamiento no están directamente relacionadas a las distancias físicas entre marcadores genéticos, dado que esto depende del tamaño del genoma (Paterson, 1996). Además, la relación entre la distancia física y genética varía a lo largo de un cromosoma (Young, 1994), dado que existen regiones llamadas de alta frecuencia de recombinación o *hot spots* y regiones en las que la recombinación ocurre con muy baja frecuencia o *cold spots* (Yao *et al.*, 2002; Fengler *et al.*, 2007).

1.2.4. MÉTODOS DE MAPEO DE QTLs

El mapeo por marcador simple es el método más sencillo para detectar asociaciones entre marcadores y QTLs, el cual consiste en una prueba t, análisis de la varianza o regresión lineal y el análisis se realiza para cada locus del marcador independientemente de la información de otros *loci*. Esta técnica es simple computacionalmente y no se requiere la construcción de un mapa de ligamiento, pero tiene algunas desventajas. Si el ligamiento entre el QTL y el marcador es débil disminuye la probabilidad de detectarlo debido a que podría ocurrir una recombinación entre ambos. Además este método no puede determinar si los marcadores están asociados con uno o más QTLs y no permite estimar la localización del mismo.

El mapeo por intervalo simple hace uso de un mapa de ligamiento y analiza intervalos entre pares adyacentes de marcadores ligados a lo largo del cromosoma. Esto evita el inconveniente de la posible recombinación entre el QTL y el marcador y por lo tanto es estadísticamente más robusto en comparación con el análisis por marcador simple. Se genera un perfil del sitio más probable para la ubicación de un QTL dentro de un intervalo comprendido entre dos marcadores adyacentes en el mapa de ligamiento y el resultado del test estadístico se presenta generalmente usando un valor de LOD score o un valor estadístico de la relación de verosimilitud (LR), el cual compara la evaluación de la función de verosimilitud bajo la hipótesis nula (ausencia de QTL) con la hipótesis alternativa (presencia de QTL en la posición en la que se evalúa) para localizar un posible QTL. Este valor de LOD debe exceder un nivel de significancia especificado para que el QTL sea declarado estadísticamente significativo. La determinación del valor umbral de significancia se obtiene usualmente mediante un test de permutaciones (Churchill and Doerge, 1994). Comparado con el método por marcador simple, tiene las ventajas de que la posición probable del QTL puede ser inferida por un intervalo, la localización del QTL no es sesgada si hay un solo QTL segregando sobre un cromosoma y se requiere de la evaluación de un menor número de individuos (Zeng, 1994). Sin embargo, posee algunas limitaciones, debido a que el

test estadístico en un intervalo determinado puede ser afectado por la presencia de otros QTLs localizados en otras regiones, fuera del intervalo analizado.

El mapeo por intervalo compuesto combina el uso del mapeo por intervalo simple con regresión múltiple e incluye marcadores adicionales en el modelo estadístico, además del par adyacente de marcadores ligados utilizados en el mapeo por intervalo simple. La ventaja de este método es su mayor precisión comparado con el mapeo por intervalo simple, especialmente cuando están involucrados QTLs ligados. Mediante este método es posible solucionar las limitaciones del mapeo por intervalo simple, dado que permite analizar un intervalo para determinar la presencia de un QTL, pero el test estadístico se realiza de manera independiente de los efectos de los posibles QTLs localizados en otras regiones del cromosoma. De esta manera, se elimina el sesgo y se incrementa la precisión (Zeng, 1993). Es más eficiente debido a que la mayor parte de la variación genética puede ser controlada y eliminada de la variación residual en el modelo por el empleo de los marcadores utilizados como cofactores.

El mapeo por intervalos múltiples utiliza intervalos múltiples de marcadores simultáneamente y fija múltiples QTLs putativos en un modelo. El modelo utilizado mediante este método predice que el valor de un carácter cuantitativo es la suma de los efectos de los QTLs, más sus posibles efectos epistáticos y las desviaciones ambientales. Este método es útil para la identificación y estimación de parámetros de arquitectura genética, incluido el número, la posición genómica, los efectos y las interacciones de los QTLs significativos y su contribución a la varianza genética (Kao *et al.*, 1999). Mediante este modelo se analizan las interacciones epistáticas entre los QTLs y se estima el valor genotípico individual y las heredabilidades de los caracteres cuantitativos.

El mapeo de caracteres múltiples es una extensión del método de mapeo por intervalo compuesto para caracteres correlacionados genéticamente, el cual analiza y busca QTLs para varios caracteres simultáneamente. Este análisis permite mejorar el poder estadístico del test de detección de QTLs y la precisión de la estimación de los parámetros al tener en cuenta la estructura de correlación genética entre los rasgos. Mediante este método se puede analizar la hipótesis de pleiotropía y la interacción de los QTLs con el ambiente. El modelo utilizado es el mismo que se emplea para el método de mapeo por intervalo compuesto, pero todas las matrices y vectores son expandidos a un número t de variables o caracteres (Jiang and Zeng, 1995). Posee algunas ventajas con respecto al método de mapeo por intervalo compuesto, debido a que el análisis conjunto de los caracteres puede aumentar el poder estadístico de detección de los QTLs y mejorar la precisión de la estimación de los parámetros.

El método multi caracter-multi intervalos es considerado como una generalización del MIM (Mapeo por intervalos Múltiples) que analiza un carácter a la vez y del MT-CIM (Mapeo por Intervalos Compuestos de Múltiples Caracteres) que lo hace con varios caracteres simultáneamente. En lugar de realizar un test sobre un QTL a la vez como en MT-CIM, el modelo analiza un número determinado de QTLs simultáneamente al igual que el método MIM. Las hipótesis que pueden ponerse a prueba mediante este análisis son las mismas que mediante el método MT-CIM, es decir presencia de QTLs pleiotrópicos y análisis de interacción de los QTLs con el ambiente (Malosetti *et al.*, 2008; Da Costa E Silva *et al.*, 2012).

1.2.5. MAPEO DE QTLs EN MAÍZ

El análisis de QTLs ha ampliado el conocimiento de las bases genéticas que controlan determinados caracteres morfofisiológicos involucrados en la respuesta a diferentes tipos de estrés abiótico en maíz. Se han identificado un gran número de QTLs y genes candidatos que regulan estos caracteres y tienen efecto sobre el rendimiento (Ribaut *et al.*, 1996, 2002, 2004; Veldboom and Lee, 1996; Sari-Gorla *et al.*, 1999; Xu *et al.*, 2009), lo cual ha permitido la obtención de líneas mejoradas con mayor tolerancia a estrés.

En cuanto a los caracteres asociados con la arquitectura de planta y del canopeo, se han identificado un gran número de QTLs asociados a la altura de planta y de la espiga (Berke and Rocheford, 1995; Austin *et al.*, 2001; Tang *et al.*, 2007; Zheng and Liu, 2013b). Sin embargo, pocos grupos de investigación han estudiado las bases genéticas que controlan a los caracteres asociados con la arquitectura del canopeo y de la planta y que tienen efecto sobre la eficiencia en la intercepción de radiación, tales como el ángulo de inserción foliar, el número de hojas totales, el ancho y la longitud de la hoja, la longitud de los entrenudos y el retraso de la senescencia o *stay green*.

1.2.5.1. MAPEO DE QTLs QUE CONTROLAN EL ÁNGULO DE INSERCIÓN FOLIAR

En los últimos años, con el desarrollo de los métodos de genotipado por secuenciación que permiten el empleo de los marcadores moleculares SNP (Polimorfismo de Nucleótido Simple), con los cuales se pueden construir mapas de ligamiento saturados, diversos grupos de investigación han estudiado las bases genéticas asociadas a este atributo a través de la evaluación de poblaciones de mapeo con gran cantidad de individuos, de manera tal de realizar

un mapeo fino (Li *et al.*, 2015; Ku *et al.*, 2016). Por su parte, algunos grupos de investigación han efectuado la búsqueda de QTLs asociados a este atributo mediante el empleo de marcadores SSR e identificaron regiones en todos los cromosomas, mediante la evaluación de poblaciones de tipo $F_{2:3}$ (Yu *et al.*, 2006; Lu *et al.*, 2007; Ku *et al.*, 2010, 2012; Chen *et al.*, 2015) y RILs (Mickelson *et al.*, 2002; Wassom, 2013).

Tian *et al* (2011), quienes identificaron QTLs asociados al ángulo de inserción foliar, longitud de la hoja y ancho de la hoja mediante mapeo por asociación, observaron que la arquitectura genética que controla las características foliares está dominada por pequeños efectos aditivos, con poca epistasis, interacción ambiental o pleiotropía y detectaron una baja correlación fenotípica entre estos caracteres, lo cual podría explicarse por una base genética diferente que controla a cada uno de estos.

Los genes responsables de establecer el patrón adaxial-abaxial en el desarrollo de la hoja podrían jugar un rol clave en el control del ángulo de inserción (Ku *et al.*, 2011). Varios genes que controlan esta característica han sido clonados en arroz mediante mapeo posicional (Sakamoto *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2007; Tan *et al.*, 2008).

Zhang *et al* (2014a), clonaron el gen *ZmCLA4* mediante el método de clonación basado en mapeo, como parte de un QTL identificado en el bin 4.03 que estaba asociado al ángulo de inserción foliar. Mediante análisis de expresión observaron una correlación negativa entre el valor del ángulo de inserción foliar y el nivel de expresión, lo cual indicaba que *ZmCLA4* posee un rol negativo sobre este carácter a través de la alteración de la acumulación del transcrito. Mediante comparación de secuencias, concluyeron que *ZmCLA4* es un ortólogo funcional del gen LAZY1 de arroz y *Arabidopsis* y codifica para una proteína de 412 aminoácidos que posee un dominio transmembrana en el extremo N-terminal y una señal de localización nuclear en el extremo C-terminal. Observaron que en las plantas transgénicas de maíz en las cuales el gen estaba inhibido por un ARN de interferencia el valor del ángulo de la hoja era mayor al de las planta controles, mientras que en las plantas transgénicas de arroz que sobreexpresaban el gen, el ángulo de inserción era menor que en las plantas controles.

1.2.5.2. MAPEO DE QTLs ASOCIADOS AL ÍNDICE DE ÁREA FOLIAR

El estudio de las bases genéticas que controlan el IAF ha sido efectuado a través de la identificación de regiones genómicas asociadas a los caracteres que lo determinan, es decir el ancho y la longitud de la hoja y el número de hojas por planta.

Varios grupos de investigación identificaron QTLs asociados a la longitud y el ancho de la hoja en poblaciones de RILs (Reymond *et al.*, 2004; Pelleschi *et al.*, 2006; Cai *et al.*, 2012; Wassom, 2013; Zheng and Liu, 2013b; Ku *et al.*, 2016) y F_{2:3} (Ku *et al.*, 2010, 2011; Nikolic *et al.*, 2011) y detectaron regiones asociadas a estos rasgos en todos los cromosomas.

Li *et al* (2015) utilizaron tres poblaciones de RILs F₇ e identificaron seis QTL asociados a la longitud de la hoja en las tres poblaciones, en los cromosomas 1, 2, 3, 4 y 8. Además, detectaron ocho QTLs asociados al ancho de la hoja en los cromosomas 1, 2, 4, 5, 7 y 9. Mediante la búsqueda de genes candidatos identificaron el gen *gn* (*gnarley1*) que regula la iniciación de la hoja, en un intervalo correspondiente a un QTL en el cromosoma 2. Además localizaron al gen *knox7* (*knotted related homeobox 7*), el cual regula el inicio del desarrollo de la hoja, en un intervalo correspondiente a un QTL en el cromosoma 4. Para el ancho de la hoja, observaron que la posición de un QTL en el cromosoma 1 se superponía con la posición del gen *phb* (*Phabulosa*) de *Arabidopsis*, el cual actúa en el establecimiento de la polaridad de la hoja.

Guo *et al* (2015) analizaron cuatro poblaciones de RILs con marcadores SNP y evaluaron el ancho de la hoja en cuatro hojas consecutivas por encima de la espiga y concluyeron en que el ancho de la hoja por encima de la espiga en diferentes posiciones puede ser controlado por diferentes regiones genómicas y también por QTLs comunes, lo cual indica que la arquitectura genética que controla este carácter está determinada por QTLs de efecto menor, principalmente.

Cai *et al* (2012) identificaron QTLs asociados al área foliar por planta en todos los cromosomas excepto el 7 y 8. Zheng and Liu (2013b) detectaron dos QTLs asociados al área foliar de la hoja de la espiga en los cromosomas 4 y 7. Ku *et al* (2016) por su parte detectaron 15 QTLs asociados al área foliar por planta en todos los cromosomas excepto el 10, mientras que Cui *et al* (2017) detectaron ocho regiones asociadas a este atributo en los cromosomas 2, 4, 5, 6 y 7. Estos autores identificaron varios QTLs que mostraban interacción con el ambiente y varias interacciones epistáticas que contribuían a la variación de este carácter.

Alves Lima *et al* (2006) identificaron dos QTLs sobre el cromosoma 1 asociados al número de hojas por encima de la espiga y observaron que ambos QTLs interactuaban significativamente con el ambiente. Tang *et al* (2007) identificaron ocho regiones genómicas asociadas al número de hojas totales en los cromosomas 1, 3, 4 y 9, mientras que Zheng and Liu (2013a) identificaron cuatro QTLs asociadas al número de hojas totales en los cromosomas 2, 7 y 9, en condiciones óptimas de disponibilidad de nitrógeno y cuatro QTLs en condiciones limitantes de nitrógeno, en los cromosomas 3, 7 y 9.

Li *et al* (2016a) analizaron una población de RILs con marcadores SNP y evaluaron el número de hojas totales y el número de hojas por debajo y por encima de las espiga. Estos autores concluyeron en que la arquitectura genética que controla el número de hojas totales está compuesta por muchos QTLs de efecto menor, al igual que para el número de hojas debajo de la espiga, pero que el número de hojas apicales estaba controlado por un QTL de efecto mayor y muchos de efecto menor. Además identificaron seis QTLs pleiotrópicos asociados al número de hojas totales y el número de hojas encima de la espiga, 11 QTLs asociados al número de hojas totales y el número de hojas debajo de la espiga y solamente tres QTLs asociados al número de hojas debajo y encima de la espiga, lo cual indica que estos dos caracteres estarían bajo un control genético independiente. A su vez, detectaron 15 QTLs pleiotrópicos asociados al número de hojas y días a antesis, lo cual sugiere que los dos caracteres están comúnmente regulados genéticamente y de esos 15 QTLs el mayor porcentaje tenía efecto sobre días a antesis y el número de hojas por debajo de la espiga.

1.2.5.3. MAPEO DE QTLs ASOCIADOS A STAY GREEN

El análisis genético inicial de la característica *stay green* estuvo enfocado en el estudio de genes particulares (Gentinetta *et al.*, 1986; Ceppi *et al.*, 1987) y por lo tanto se creía que el carácter poseía herencia cualitativa. En los últimos años, el estudio de muchos cultivos *stay green* demostró que este carácter puede estar condicionado en su expresión por muchos genes (Osterom *et al.*, 1996; Crasta *et al.*, 1999). El mapeo de QTLs asociados a este rasgo se ha efectuado en varios cultivos como sorgo (*Sorghum bicolor* L.) (Hausmann *et al.*, 2002), arroz (Jiang *et al.*, 2004), trigo (Kumar *et al.*, 2010) y maíz (Zheng *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2012b).

Zheng *et al* (2009) detectaron 14 QTLs relacionados con el carácter *stay green* en diferentes intervalos de tiempo luego de la floración. Dos QTLs asociados al área foliar verde relativa a los 20 días en postfloración en los cromosomas 1 y 6, seis QTLs para el área foliar verde relativa a los 40 días en postfloración en los cromosomas 1, 2, 3, 5 y 8, cuatro asociados al área foliar verde relativa a los 50 días en postfloración, en los cromosomas 1, 2, 5 y 9 y dos QTLs que controlaban el área foliar verde relativa a los 60 días en postfloración, en los cromosomas 1 y 2. Además observaron una correlación positiva entre este carácter y determinados parámetros asociados al rendimiento, como el peso de 1000 granos, diámetro de la espiga y producción de granos por planta.

Wang *et al* (2012b) identificaron cinco regiones asociadas al área foliar total por planta en los cromosomas 1, 4 y 9, cuatro para el área foliar a los 30 días en postfloración en los cromosomas 1, 4, 5 y 6, seis asociadas al área foliar durante el periodo de maduración de granos en los cromosomas 1, 4, 5 y 9, tres asociadas al número de hojas totales en los cromosomas 2, 3 y 5 y cuatro asociadas al número de hojas verdes durante el periodo de maduración de granos en los cromosomas 4, 5 y 9. Además observaron que los QTLs relacionados con el área foliar fueron identificados en el cromosoma 1, lo cual indicaría que este cromosoma sería importante en el control de este atributo.

Belcúas *et al* (2014) analizaron fenotípicamente el carácter *stay green* a los 120 días después de la emergencia, mediante una escala numérica. Estos autores identificaron 17 QTLs asociados a este carácter en los cromosomas 1, 2, 3, 4, 6 y 9, de los cuales nueve interactuaban significativamente con el ambiente y la gran mayoría estaban agrupados en los cromosomas 1 y 2. Además observaron que los efectos aditivos eran más importantes que los de dominancia para su expresión.

Kante *et al* (2016) analizaron el carácter *stay green* dos meses después de floración mediante una escala visual e identificaron 10 QTLs en los cromosomas 1, 5 y 10. Observaron que los bins 1.06-1.08, 5.02 y 10.04-10.06 tenían asociación con este atributo. Además observaron que los genotipos que mostraban un comportamiento *stay green* tenían mayor peso del grano.

Trachsel *et al* (2016) analizaron la senescencia en dos poblaciones en condiciones hídricas óptimas y sujetas a estrés hídrico mediante una escala visual, después de cuatro y seis semanas de floración. Estos autores identificaron diez QTLs asociados a la persistencia foliar en la primera población y 14 QTLs en la segunda. Observaron una inconsistencia en la expresión de los QTLs en condiciones hídricas óptimas y en estrés y, detectaron una región en el cromosoma 2 que colocalizó con un QTL asociado al rendimiento.

1.2.5.4. MAPEO DE QTLs ASOCIADOS A ALTURA DE PLANTA Y LONGITUD DE ENTRENUDOS

La altura de planta es un carácter importante en maíz que tiene efecto sobre la eficiencia en la captura de luz y por lo tanto está significativamente correlacionado con la producción de biomasa y el rendimiento en granos. Este rasgo está determinado por un gran número de genes que codifican para proteínas involucradas en vías de señalización, síntesis y transporte de hormonas

(Zhou *et al.*, 2016). La mayoría de estos genes participan en el metabolismo de las hormonas llamadas giberelinas y están involucrados en diversos aspectos del crecimiento y desarrollo de la planta, especialmente la elongación de los entrenudos (Sakamoto, 2004).

El mapeo de QTLs asociados a altura de planta ha sido extensamente efectuado por muchos grupos de investigación, mediante el análisis de poblaciones de tipo $F_{2:3}$ (Sibov *et al.*, 2003; Yan *et al.*, 2003b; Alves Lima *et al.*, 2006; Ku *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2010a; Nikolic *et al.*, 2011), $F_{2:4}$ (Zhang *et al.*, 2007), RILs (Tang *et al.*, 2007; Zheng and Liu, 2013a; Zhou *et al.*, 2016), haploides duplicados (Zhu *et al.*, 2013) y retrocruzas (Trachsel *et al.*, 2016). La mayoría de estos grupos de investigación observaron que los QTLs que controlan este rasgo poseen una interacción significativa con el ambiente y varias interacciones epistáticas entre QTLs.

En cuanto a la longitud de los entrenudos, Tang *et al.* (2007) observaron una correlación elevada de este carácter con la altura de planta y detectaron cuatro regiones genómicas con efecto sobre ambos rasgos, concluyendo en que la longitud de los entrenudos es el componente principal que determina la altura de planta. Otros grupos de investigación evaluaron la longitud de los entrenudos por encima de la hoja de la espiga (Zhang *et al.*, 2010b; Chen *et al.*, 2015; Ku *et al.*, 2015). Estos últimos autores determinaron que la longitud de cada uno de los entrenudos por encima de la hoja de la espiga podría estar controlada por varios QTLs comunes y también por regiones genómicas específicas de cada uno. Zhu *et al.* (2013) por su parte identificaron varias interacciones epistáticas que controlaban la variación de este rasgo y también muchos QTLs que presentaban interacción significativa con el ambiente.

1.2.6. ANTECEDENTES DE TRABAJO EN INTA PERGAMINO

En la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) en Pergamino, se desarrollaron los métodos necesarios para evaluar determinados atributos asociados a la arquitectura del canopeo y la eficiencia en la captación de luz en maíz, tales como área foliar verde máximo por planta (AFP_{MAX}), ángulo de inserción de las hojas y duración del área foliar verde, en un número elevado de genotipos (D'Andrea *et al.*, 2006, 2009). Estos atributos se evaluaron en líneas endocriadas de maíz, se seleccionaron las líneas contrastantes para los caracteres antes mencionados y a partir del cruzamiento entre estas, por autofecundaciones aleatorias sucesivas bajo un esquema de *Single Seed Descent* (SSD) se obtuvo una población de líneas endocriadas recombinantes hasta el estadio F_5 .

Teniendo en cuenta que el rendimiento depende de la producción de biomasa del cultivo y de la proporción de esa biomasa destinada a generar granos (IC), una estrategia para aumentar el rendimiento potencial en maíz sería aumentar la producción de biomasa del cultivo (siempre que el IC no disminuya) a través de un incremento en la eficiencia de interceptación de la radiación. Para esto, la evaluación de los caracteres que influyen en la captura de luz, es un requisito necesario para determinar el efecto de la variación de estos rasgos sobre la variación en la producción de biomasa y en última instancia del rendimiento y, evaluar la factibilidad de emplear estos atributos en un esquema de selección indirecta. A su vez, el estudio de las bases genéticas asociadas a estos caracteres permitiría identificar regiones genómicas que controlan la variación de los mismos, las cuales podrían emplearse en un programa de selección asistida por marcadores. La ventaja de esta aproximación reside en la capacidad de utilizar estos marcadores como criterio de preselección de material en etapas tempranas del ciclo, aumentando el control parental y con ello la ganancia por selección. La evaluación y selección indirecta de genotipos basadas en su perfil molecular podría resultar conveniente frente a la evaluación y selección directa en base a la expresión fenotípica de caracteres fisiológicos, de muy difícil determinación en un gran número de genotipos y a campo. La disponibilidad de un mapa genético básico donde se identifiquen QTLs estables para estas características favorables permitirá la construcción de mapas genéticos de mayor densidad en esos QTLs para aplicar la selección asistida por marcadores con mayor precisión.

El estudio de las bases genéticas que controlan a los atributos asociados con la arquitectura de canopeo, solamente fue llevada a cabo en nuestro país mediante la evaluación de una población de RILs proveniente de las líneas públicas B73 y Mo17 (Incognito *et al.*, 2017), siendo escaso el conocimiento al respecto en materiales genéticos locales. En el presente estudio se utilizó una población de RILs resultante del cruzamiento entre las líneas parentales LP179 y L5605, obtenidas en la EEA INTA Pergamino, para evaluar caracteres morfofisiológicos asociados a la captura de luz y determinar su efecto sobre la producción de biomasa y el rendimiento. Mediante el desarrollo de un mapa genético obtenido a partir del empleo de marcadores moleculares microsatélites se identificaron regiones cromosómicas asociadas a los mismos. El empleo de materiales genéticos diferentes de los evaluados actualmente permitió identificar nuevas regiones genómicas de origen diferente al de las líneas públicas B73 y Mo17.

1.3. OBJETIVO GENERAL

Estudiar las bases genéticas que controlan la variación de los caracteres relacionados con la captación de luz en maíz mediante el mapeo de QTLs.

1.3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar fenotípicamente a campo en la población de mapeo los caracteres ecofisiológicos asociados con la eficiencia en la captación de luz, para poder analizar la estructura de correlaciones, la variabilidad genotípica y estimar la heredabilidad asociada a los mismos.
2. Identificar marcadores moleculares SSR polimórficos entre ambas líneas parentales y realizar un mapeo genotípico con los mismos sobre la población de RILs F₅.
3. Identificar cuáles de los caracteres asociados a la captación de luz evaluados poseen los mayores efectos, directos o indirectamente sobre la producción de biomasa y el rendimiento en granos.
4. Identificar mediante un análisis de asociación entre los datos fenotípicos y genotípicos, marcadores SSR ligados a regiones genómicas que posean un efecto sobre los caracteres evaluados.

1.4. HIPÓTESIS

1. En la población de RILs empleada en el presente proyecto existe variabilidad genética y fenotípica para los caracteres asociados con la captura de luz.
2. Las líneas parentales empleadas poseen un alto porcentaje de polimorfismo molecular y esto permitiría identificar un elevado número de marcadores SSR para genotipar la población de mapeo obtenida a partir de su cruzamiento inicial.
3. Se espera que determinados atributos, como el tamaño y la persistencia del área foliar en postfloración, tengan un mayor efecto sobre la producción de biomasa y el rendimiento, dado que el incremento en el primero de los rasgos mencionados permitiría interceptar un mayor porcentaje de la radiación incidente y una mayor duración del área foliar verde fotosintéticamente activa prolongaría la intercepción de radiación durante el periodo de postfloración, lo cual implica una mayor producción de fotoasimilados para el llenado de los granos.

4. La variabilidad genética existente en los caracteres relacionados con la captación de luz está asociada con determinadas regiones genómicas que presentan variaciones alélicas detectables con marcadores moleculares del tipo SSR.
5. Los marcadores moleculares SSR reportados en la literatura por sus ligamientos con regiones genómicas asociadas a caracteres relacionados con la captura de luz, podrían ser útiles para la detección de QTLs en las líneas locales empleadas en el presente trabajo y podrían detectarse nuevas regiones genómicas que expliquen una mayor proporción de la varianza genética para esos caracteres.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. MATERIAL VEGETAL

El material genético evaluado estuvo constituido por una población estabilizada de 151 RILs F_5 (coeficiente de endogamia (F) promedio de 0,875 (Falconer, 1981), considerando que F en la generación $F_2 = 0$; porcentaje promedio de individuos homocigotas = 0,9375), obtenida a partir del cruzamiento inicial entre las líneas LP179 y L5605, las cuales difieren significativamente en los valores de determinados caracteres asociados a la captura de luz. Para la caracterización fenotípica se utilizaron 138 RILs $F_{5.6}$ en el primer ensayo de evaluación, 134 RILs $F_{5.7}$ en el segundo y 133 RILs $F_{5.8}$ en el tercer y último ensayo. La cantidad de genotipos evaluados en cada uno de los ensayos fue diferente debido a la disponibilidad de semillas suficientes para realizar la siembra de las mismas. De los 138 genotipos evaluados en el primer experimento, 17 no se pudieron sembrar en el segundo y en el tercero, pero en estos se sembraron 13 que no habían sido evaluados previamente. En el tercer experimento se evaluaron los mismos genotipos que en el segundo, excepto uno que no pudo sembrarse por falta de semillas suficientes. En total, a través de los tres experimentos se evaluaron 151 genotipos, de los cuales 121 fueron fenotipados en los tres ensayos, 13 en dos y 17 solamente en uno.

La línea parental LP179 deriva de una sintética (Suwan) seleccionada por adaptación al medio oeste de Estados Unidos y posteriormente introducida en Argentina (Eyhérbide, comunicación personal). Posee textura tipo *flint* con grano de color anaranjado. Es una línea de ciclo completo que se caracteriza por poseer una orientación foliar semierecta, elevada persistencia foliar verde en el periodo de postfloración, índice de área foliar alto como producto de un área foliar elevado, y baja estatura de planta (Cirilo, comunicación personal). La línea L5605 fue obtenida por endocría hasta estabilización a partir del cruzamiento entre las líneas LP116 y P578. A su vez, LP116 deriva por endocría de la Sintética Argentino – Caribe y P578 es una línea derivada del cruzamiento entre germoplasma argentino y de Estados Unidos (Eyhérbide, comunicación personal). Todos los materiales fueron desarrollados por la EEA INTA Pergamino. La línea L5605, se caracteriza por poseer un grano de color anaranjado tipo *flint*, con una orientación foliar erectófila, baja persistencia foliar verde en postfloración, bajo índice de área foliar y mayor altura de planta que la línea LP179 (Cirilo, comunicación personal).

En una población de RILs del tipo F_5 , $F_{5.6}$, $F_{5.7}$, $F_{5.8}$, se espera un nivel de homocigosis promedio similar e igual a 0,9375, dado que las RILs F_5 son multiplicadas mediante polinizaciones

fraternales bajo sobre y cosecha en bulk de semillas de cada una. Si se asume ausencia de epistasis, la variancia genotípica entre las líneas F_5 derivada de un cruzamiento biparental entre líneas homocigotas es $15/8$ de la variancia aditiva y $12/256$ de la variancia de dominancia ($1,875*VA + 0,058*VD$) y la variancia genotípica dentro de familias es $0,0625*VA + 0,0625*VD$, donde VA y VD hacen referencia a la variancia aditiva y de dominancia en la población F_2 derivada del cruzamiento LP179xL5605. En presencia de epistasis de primer orden, la variancia genotípica entre RILs $F_{5;n}$ será $15/8*VA + (15/8)^2*VAA + (15/256)^2*VDD + 225/3840*VAD$, donde VAA, VDD y VAD hacen referencia a la epistasis aditiva x aditiva, dominante x dominante y aditiva x dominante.

2.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

La evaluación fenotípica de la población de RILs más las dos líneas parentales se llevó a cabo en el campo experimental de la EEA INTA Pergamino ($33^{\circ} 56'S$, $60^{\circ} 34'O$) sobre un suelo Argiudol típico (arcilloso limoso), durante las campañas 2013/2014 (Exp1), 2014/2015 (Exp2) y 2015/2016 (Exp3), en condiciones de secano y con el agregado de fertilizantes en forma de fosfato diamónico (40 kg P.ha^{-1} y 36 kg N.ha^{-1}) durante la siembra y urea (230 kg N.ha^{-1}) en el estadio V7.

El material a evaluar se distribuyó en un diseño en bloques completos aleatorizados con dos repeticiones. Cada parcela consistió de tres surcos de cinco metros de longitud distantes a 0,7 metros entre sí. La distancia entre cada planta dentro del surco fue de 0,16 metros determinando una densidad final aproximada de 9 plantas. m^{-2} . La siembra se realizó de manera manual a razón de tres semillas por golpe y en el estadio V3 se efectuó el raleado para obtener una planta por golpe (Ritchie and Hanway, 1982).

En el Exp1 la siembra se realizó el 6 de noviembre (primera repetición) y el 12 de noviembre (segunda repetición). En el Exp2 se efectuó la siembra de la primera repetición el 24 de octubre y la de la segunda repetición el 28 del mismo mes. En este ensayo se evaluó una sola repetición debido a que en una de las mismas la emergencia no fue la adecuada y al no obtenerse la densidad de plantas necesaria se la desestimó para realizar las mediciones fenotípicas. En el Exp3 la siembra del ensayo completo se realizó el 3 de noviembre.

Para el control de malezas se aplicaron herbicidas tanto en pre-emergencia como durante el ciclo del cultivo. En la Tabla 1 se mencionan los productos químicos aplicados, el estadio respectivo de aplicación y las malezas para las cuales se empleó cada herbicida.

Tabla1: Herbicidas aplicados durante el ciclo de cultivo.

Estadio de aplicación	Herbicida	Dosis	Malezas
Pre-emergencia	-Atrazina ((2-cloro-4-(etilamina) 6-(isopropilamina)-s-triazina)	2 l.ha ⁻¹	Hoja ancha
	-Glifosato ((N-fosfonometilglicina)	3 l.ha ⁻¹	Hoja fina y hoja ancha
	-Metolaclor (S-2-cloro-N-(2-etil-6-metil-fenil) N-(2-metoxi-1-metil-etil)-acetamida	1,5 l.ha ⁻¹	Hoja fina
V5	-Halosulfuron-metil (metil-3 cloro-5 (4,6-dimetoxipirimidin-2-ylcarbamoil-sulfamoil)-1-metilpirazole-4-carboxilato)	80 g.ha ⁻¹	Cebollín (<i>Cyperus rotundus</i> L.)
V5	-Dicloruro de paraquat (1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilio)	2 l.ha ⁻¹	Gramón (<i>Cynodon dactylon</i> L.)
V5	-Foramsulfuron: N, N-dimetil-2-[3-(4,6-dimetoxipirimidin-2-il) ureidosulfonil]-4 formilaminobenzamida -Odosulfuron metil sodio: sal sódica de 4-yodo-2-[3-(4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazin-2-il) ureidosulfurfonil] benzoato de metilo isoxadifen ethyl	120 g.ha ⁻¹	Verdolaga (<i>Portulaca oleracea</i> L.) Cuaresma (<i>Digitaria sanguinalis</i> L.) Capín (<i>Echinochloa crusgalli</i> L.)

2.3. EVALUACIONES FENOTÍPICAS

En el estadio V4 se marcaron tres plantas en el surco central de cada parcela. Sobre estas se efectuaron todas las mediciones no destructivas hasta el periodo de madurez fisiológica, excepto las determinaciones fenológicas de emergencia, antesis y floración femenina en las que se consideraron todas las plantas de cada parcela. En madurez fisiológica (momento en que los granos de la porción media de las espigas mostraron una “capa negra” resultante de la necrosis de los haces vasculares en el pedicelo de los granos) se cosecharon las plantas marcadas para determinar los componentes de rendimiento. Los caracteres evaluados fueron los siguientes:

- Periodo entre emergencia y antesis (EA, días): Se registró la fecha de floración masculina cuando al menos el 50% de las plantas de la parcela presentaban una antera visible liberando polen. El periodo EA se determinó como la diferencia en días entre la fecha de antesis y de emergencia de cada parcela.

- Periodo entre emergencia y floración femenina ó silking (ES, días): Se registró la fecha en la cual al menos el 50% de las plantas de cada parcela presentaba un estigma visible. El periodo ES se determinó como la diferencia en días entre la fecha de silking y la de emergencia para cada parcela.
- Intervalo antesis-silking (ASI, días): Se calculó para cada parcela como la diferencia en días entre la fecha de silking y la de antesis (Uribelarrea *et al.*, 2002).
- Altura de planta (AP, cm): Se registró como la distancia desde el suelo hasta la lígula de la última hoja.
- Número de hojas totales (NHT): Se marcaron las hojas correspondientes a las posiciones cinco y diez a medida que fueron desplegándose para llevar el cómputo de hojas desplegadas y luego obtener el número de hojas totales generado por cada planta (Tang *et al.*, 2007).
- Longitud promedio de entrenudos en floración (LE, cm): Se determinó como el cociente entre la altura de planta y el número de entrenudos en floración (Tang *et al.*, 2007).
- Ángulo promedio de inserción vertical de las hojas en el tallo en floración (ÁNG, °): Se cuantificó el ángulo existente en un plano definido entre la hoja y el tallo. Este dato se registró para todas las hojas por encima de la hoja de la espiga. Luego se obtuvo un valor promedio para cada planta de la siguiente manera:

$$- \text{ÁNG} = (\alpha_1 + \alpha_2 + \dots + \alpha_n) / n \quad (3)$$

donde α_1 : ángulo de inserción de la primera hoja por encima de la hoja de la espiga; α_n : ángulo de inserción de la n-ésima hoja por encima de la hoja de la espiga; n: número de hojas por encima de la hoja de la espiga (Ku *et al.*, 2010).

- Área foliar verde máxima por planta en floración femenina (AFM, cm²): Se determinó como la sumatoria del área foliar de las hojas verdes de cada planta en floración. Para ello se midió la longitud (L) y el ancho máximo (A) de cada hoja y se calculó su área foliar (AF) de la siguiente manera:

$$- \text{AF} = L * A * 0,75 \text{ (Montgomery, 1911)}. \quad (4)$$

- Índice de área foliar máximo en floración femenina por parcela (IAF, m² de hojas.m⁻² de suelo): Se obtuvo como el producto del valor de AFM (transformado a m² de hojas) obtenido a partir del promedio de las tres plantas evaluadas en cada parcela y la densidad de siembra (9 plantas.m⁻²).
- Área foliar de la hoja de la espiga más las tres hojas superiores (AF_{HE+3}, cm²): en el Exp1 y Exp2, debido a que muchas hojas presentaban daños mecánicos causados por factores climáticos que impidieron su medición, solo se registraron los valores de L y A de la hoja de la espiga (HE) más las tres hojas inmediatamente superiores (HE + 1, HE + 2 y HE + 3) y se obtuvo un valor de AF por planta como la sumatoria del AF de esas hojas. Luego con los datos de AF_{HE+3} y AFM del Exp 3 se estimó el AFM para cada uno de los genotipos evaluados en el Exp1 y Exp2 de la siguiente manera:

$$- \text{AFM}(i, j) = (\text{AF}_{\text{HE}+3}(i, j) * 100\%) / \%_{\text{HE}+3\text{Exp}3} \quad (5)$$

donde, i: i-ésimo genotipo (i = 1.....151); j: j-ésimo Experimento (j = 1,2.)

Para cada genotipo, con los datos de AFM y AF_{HE+3} en el Exp3, se determinó el porcentaje (%_{HE+3Exp3}) del AFM al que correspondía el AF_{HE+3}. Luego para ese mismo genotipo evaluado en el Exp1 y Exp2, se estimó el AFM asumiendo que el valor medido de AF_{HE+3} en ese experimento correspondía a el porcentaje (%_{HE+3Exp3}) determinado previamente con los datos del Exp3, como se muestra en la formula (5).

- Longitud máxima de la hoja (LMH, cm): Para cada genotipo se registró el valor máximo de longitud de la lámina de la hoja, desde la lígula hasta el extremo.
- Ancho máximo de la hoja (AMH, cm): Para cada genotipo se registró el valor máximo de ancho de la hoja.
- Número de hojas verdes en floración (NHV_F): En el estadio de floración femenina o R1 se registró el número de hojas verdes de cada genotipo.
- Persistencia de hojas verdes en postfloración (PHV, días): Se registró como los días que transcurrieron desde la fecha de floración femenina hasta la senescencia de la última hoja en cada planta para cada genotipo. Las hojas se consideraron senescidas cuando la mitad o más de sus láminas mostraban signos de clorosis o amarillamiento.

- Periodo desde emergencia a senescencia (PES, días): Se determinó para cada genotipo la cantidad de días que transcurrieron desde la emergencia hasta la senescencia de la última hoja.
- Tasa promedio de senescencia en postfloración (TSP1, hojas.dia⁻¹ y TSP2, cm².dia⁻¹): Se obtuvo como el cociente entre el número de hojas verdes en floración femenina y la PHV, y como el cociente entre el AFM en floración femenina y la PHV.
- Número de hojas verdes relativo en postfloración (NHVR_{PF}): Con intervalos de 10 días luego de la fecha promedio de floración femenina se llevó a cabo un seguimiento del número de hojas verdes para luego determinar la proporción de hojas verdes remanentes en relación al NHV_F. Se determinó el NHVR en un determinado estadio en postfloración como el cociente entre el número de hojas verdes en ese estadio y el NHV_F, para luego graficar la evolución del número relativo de hojas verdes en postfloración en las líneas parentales.
- Fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada por el canopeo en floración (fRFAI_{max}): Para realizar estas mediciones se empleó un sensor ceptómetro de un metro de longitud, marca comercial Cavadevices®. Las determinaciones se realizaron en días soleados entre las 11 y las 14 horas. En cada parcela se realizó una medición de la radiación incidente por encima del canopeo (μMOL de fotones.m⁻².s⁻¹) y tres mediciones de la radiación transmitida dentro del mismo sobre el surco central de cada parcela. Para esto, se colocó el sensor de manera diagonal a los surcos, debajo de las hojas verdes pero por encima de las hojas basales que se encontraban senescidas al momento de la medición. La radiación fotosintéticamente activa (RFA) interceptada por el canopeo en cada parcela se obtuvo como la diferencia entre la RFA incidente por encima del canopeo y la RFA transmitida (promedio de las tres mediciones de cada parcela). Luego se determinó la fRFAI como el cociente entre la RFA interceptada y la RFA incidente (Maddonni and Otegui, 1996).
- Biomasa aérea por planta en madurez fisiológica (BIO, g.pl⁻¹): En madurez fisiológica, las plantas marcadas se cosecharon y se secaron en estufa a 65°C durante siete días hasta peso constante para luego registrar el peso seco de cada una.
- Rendimiento en granos por planta (RGP, g.pl⁻¹): Se separaron las espigas del resto del material vegetal en las plantas cosechadas y se desgranaron para luego registrar el peso de los granos por planta.

- Número de granos por planta (NGP, granos.pl⁻¹): Se determinó mediante el recuento manual de los granos de cada planta.
- Peso individual del grano (PG, mg.grano⁻¹): Se obtuvo como el cociente entre el RGP y NGP.
- Índice de cosecha (IC): Se determinó mediante el cociente entre el RGP y BIO.

2.3.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS FENOTÍPICOS

Se determinaron los estadísticos descriptivos y se obtuvieron los valores de la media, desvío estándar, error estándar, coeficiente de variación (CV), mediana, asimetría y kurtosis para cada rasgo en los Exp1 y Exp3 tomando en cuenta las dos observaciones (repeticiones) por genotipo. En el Exp2 solo se dispuso de una observación por genotipo.

Se analizó la normalidad de la distribución fenotípica de los caracteres mediante el empleo de la prueba de Shapiro-Wilks modificado y se rechazó la hipótesis nula que establece normalidad en la distribución del carácter cuando la probabilidad asociada del test estadístico resultó menor a 0,01 ($p < 0,01$).

Se determinaron las correlaciones fenotípicas entre los caracteres y su relación con el rendimiento mediante el cálculo de los coeficientes de correlación de Pearson. Todos los análisis estadísticos mencionados fueron realizados mediante el empleo del programa InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2015).

Para determinar la existencia de variabilidad a nivel de genotipos se empleó un análisis de variancia combinado a través de experimentos (ambientes) a partir de un modelo lineal generalizado en el cual un determinado valor fenotípico depende del efecto del genotipo i , evaluado en una repetición k y en el ambiente j . El modelo incluyó el efecto del genotipo, del ambiente o experimento, de la repetición dentro de ambientes y de la interacción de los genotipos con el ambiente:

$$- Y_{ijk} = \mu + G_i + A_j + (R/A)_{jk} + (GA)_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad (6)$$

donde, μ : media general; G_i : efecto del i -ésimo genotipo, con $i = 1, \dots, 151$; A_j : efecto del j -ésimo ambiente, con $j = 1, 2, 3$; $(R/A)_{jk}$: efecto del k -ésimo bloque anidado en el ambiente j , con $k = 1, 2$; $(GA)_{ij}$: efecto de la interacción del i -ésimo genotipo con el j -ésimo ambiente y ε_{ijk} : error aleatorio asociado al efecto del i -ésimo genotipo, j -ésimo ambiente y k -ésimo bloque dentro del ambiente.

Todos los efectos fueron considerados como aleatorios y se utilizó el procedimiento Proc GLM del paquete estadístico SAS® 9.0 (SAS Institute, 1999).

2.3.2. ANÁLISIS DE LAS SEGREGACIONES TRANSGRESIVAS

Las segregaciones transgresivas fueron analizadas mediante el método propuesto por Wolyn *et al* (2004). Este método tiene en cuenta el error estándar y considera que existe segregación transgresiva significativa cuando el valor fenotípico de alguna de las RILs es menor a la línea parental inferior menos dos veces el error estándar (EE) o cuando es mayor a la línea parental superior más dos veces el error estándar. Es decir:

- Si $RIL > \text{media de la línea parental superior} + 2 * EE \longrightarrow$ Segregación transgresiva
- Si $RIL < \text{media de la línea parental inferior} - 2 * EE \longrightarrow$ Segregación transgresiva

2.3.3. ESTIMACIÓN DE LA HEREDABILIDAD EN SENTIDO ESTRICTO

A los fines del cálculo de la heredabilidad entre medias de RILs F_5 derivadas, se asumió ausencia de epistasis y que la variancia de dominancia tiene una ínfima contribución relativa a la variancia genotípica entre líneas y es cercana a cero. En tal caso y en presencia de epistasis, la contribución de las interacciones entre loci que involucren dominancia son despreciables. La variancia epistática aditiva x aditiva, tratándose de líneas con alta homocigosis es virtualmente fijable. De cualquier manera, debe admitirse que las estimaciones de la heredabilidad pueden resultar sobrestimadas en función de la importancia que pudiera tener la heterocigosis residual. La heredabilidad en sentido estricto (h^2) a través de medias de familias endocriadas, para cada uno de los caracteres, se estimó a partir de los componentes de variancia, los cuales fueron estimados mediante el empleo de modelos mixtos, utilizando el método de máxima verosimilitud restringida (REML) (Searle *et al.*, 1992). Este método es preferible por sobre la estimación de componentes de variancia basados en el método ANOVA cuando se trabaja con una estructura de datos desbalanceados, debido a que los estimadores son más consistentes. Para esto se empleó el procedimiento Proc MIXED del programa estadístico SAS® 9.0. La heredabilidad en sentido estricto se estimó de la siguiente manera:

$$- h^2 = \sigma_A^2 / (\sigma_A^2 + \sigma_{AE}^2/n + \sigma_e^2/nr) \text{ (Holland } et al., 2003) \quad (7)$$

donde, σ^2_A : varianza genética aditiva; σ^2_{AE} : varianza de la interacción aditivo por ambiente; σ^2_e : varianza residual; n : media armónica del número de ambientes en los cuales los genotipos fueron evaluados; nr : media armónica del número de repeticiones a través de los tres ambientes en los que los genotipos fueron evaluados.

2.3.4. ESTIMACIÓN DE LAS CORRELACIONES GENOTÍPICAS ENTRE RASGOS

Las correlaciones genotípicas fueron estimadas a partir de las covarianzas genotípicas entre los caracteres, de la siguiente manera:

$$- r_{Gxy} = \text{Cov}_{Gxy} / (\sigma^2_{Gx} * \sigma^2_{Gy})^{1/2} \text{ (Hallauer et al., 2010)} \quad (8)$$

donde, r_{Gxy} : correlación genotípica entre los caracteres x e y; Cov_{Gxy} : covarianza genotípica entre los caracteres x e y; σ^2_{Gx} : varianza genotípica del carácter x; σ^2_{Gy} : varianza genotípica del carácter y.

Previamente, las covarianzas genotípicas entre los caracteres fueron estimadas mediante el cálculo de la suma de los valores fenotípicos de los caracteres. Para obtener la covarianza genotípica entre dos rasgos x e y, se determinó la suma de los valores fenotípicos de esos dos caracteres y luego se estimó la varianza genotípica para el carácter resultante de la suma. Mediante el valor de la varianza genotípica del carácter resultante de la suma de los dos rasgos, más las varianzas genotípicas de los dos rasgos individuales se obtuvo la covarianza genotípica entre los dos caracteres de la siguiente manera:

$$- \sigma^2_{Gx+y} = \sigma^2_{Gx} + \sigma^2_{Gy} + 2 * \text{Cov}_{Gxy} \quad (9)$$

donde, σ^2_{Gx+y} : varianza genotípica del carácter resultante de la suma de los caracteres x e y; σ^2_{Gx} : varianza genotípica del carácter x; σ^2_{Gy} : varianza genotípica del carácter y; Cov_{Gxy} : covarianza genotípica entre los caracteres x e y.

Despejando la ecuación (9) se obtiene que:

$$- \text{Cov}_{Gxy} = (\sigma^2_{Gx+y} - \sigma^2_{Gx} - \sigma^2_{Gy}) / 2 \quad (10)$$

De esta manera se pudo determinar la covarianza genotípica entre los dos caracteres.

2.3.5. DETERMINACIÓN DE LOS COEFICIENTES DE SENDERO ENTRE CARACTERES

Se llevó a cabo un análisis de sendero para descomponer los coeficientes de correlaciones entre las variables en efectos directos e indirectos, e identificar las posibles relaciones causales que explican una variable respuesta, endógena o dependiente en base a otras variables denominadas predictoras, exógenas o independientes. Este método asume que las variables se asocian entre sí mediante relaciones lineales (Roehrig, 1996) y que sus coeficientes son estandarizados, ya que son estimados a partir de los coeficientes de correlación (Valencia-Ramirez and Ligarreto-Moreno, 2012). En este estudio como variables exógenas se consideraron los caracteres asociados a la captura de luz, a la senescencia y a floración de manera separada y se efectuó un análisis para cada grupo de rasgos. Además se efectuó otro análisis de sendero considerando todos los atributos que previamente habían mostrado una correlación fenotípica significativa con el rendimiento, como variables exógenas. Para fraccionar la correlación en efectos directos e indirectos se utilizó el software Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2015).

2.3.6. PREDICCIÓN DE LA RESPUESTA CORRELACIONADA EN RENDIMIENTO

Para evaluar la factibilidad de emplear los caracteres evaluados como caracteres primarios en un esquema de selección indirecta orientada a mejorar el rendimiento en granos, se estimaron las predicciones de las respuestas correlacionadas en rendimiento a partir de la selección de los caracteres que presentaron las mayores correlaciones genotípicas con este último. Para esto, las estimaciones se determinaron de la siguiente manera:

$$- RC_{RGP-X} = i_X * h_x * r_{ARGP-X} * \sigma_{ARGP} \quad (11)$$

donde, RC_{RGP-X} : respuesta correlacionada en RGP a través de la selección de un carácter x ; i_X : intensidad de selección aplicada al carácter x ; h_x : raíz cuadrada de la heredabilidad del carácter x ; r_{ARGP-X} : correlación genotípica aditiva entre el RGP y el carácter x ; σ_{ARGP} : desvío genotípico aditivo del RGP.

Se comparó la predicción de la respuesta correlacionada en rendimiento con la predicción de la respuesta por selección directa en rendimiento, la cual se obtuvo de la siguiente manera:

$$- R_{RGP} = i_{RGP} * h_{RGP} * \sigma_{ARGP} \quad (12)$$

donde, R_{RGP} : respuesta por selección directa en rendimiento; i_{RGP} : intensidad de selección aplicada al RGP; h_{RGP} : raíz cuadrada de la heredabilidad estimada para el RGP; σ_{ARGP} : desvío genotípico aditivo estimado para el RGP.

En el caso que la predicción de la respuesta correlacionada en rendimiento a través de la selección de otro carácter sea mayor a la predicción de la respuesta por selección directa en RGP, es conveniente utilizar ese carácter en un esquema de selección indirecta. De lo contrario es conveniente efectuar una selección directa sobre el RGP.

2.4. CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA

2.4.1. EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO

La extracción de ADN de las RILs y las dos líneas parentales se realizó a partir de tejido foliar en el estadio de floración. Las muestras se tomaron sobre cinco plantas de cada genotipo y el material se liofilizó y se molió de manera conjunta para obtener *bulks* de plantas. A partir de cada *bulk* se extrajo el ADN utilizando el método descrito por Kleinhofs *et al* (1993). En el Anexo I, se describe de manera detallada dicho protocolo. El ADN extraído se cuantificó en geles de agarosa al 0,8% (p/v) en *buffer* TAE 1X, teñidos con bromuro de etidio al 5% (v/v). En el Anexo II, Tablas 35 y 36, se detallan los volúmenes utilizados de cada reactivo para el armado de los geles de agarosa y del *buffer* TAE. Como testigos se emplearon muestras de ADN de concentración conocida (100, 200 y 300 ng.µl⁻¹) y la cuantificación se realizó visualmente por comparación de la intensidad de las bandas de ADN obtenidas con las bandas del ADN testigo. Antes de sembrar las muestras en los geles, las mismas se prepararon homogeneizando 2,0 µl de ADN con 6,0 µl de *loading buffer* 1X (Anexo II, Tabla 37). La visualización de los fragmentos de ADN se realizó mediante el empleo de un transiluminador (DigiDoc-It, UVP, Inc, USA).

2.4.2. AMPLIFICACIÓN DE LOS SSR MEDIANTE PCR

Se evaluaron las líneas parentales LP179 y L5605 con marcadores SSR distribuidos uniformemente en los *bins* de los diez cromosomas de maíz y se seleccionaron los SSR que resultaron polimórficos entre dichas líneas para caracterizar genotípicamente las 151 RILs correspondientes a la población de mapeo.

Para la amplificación de los marcadores SSR se utilizó la técnica de PCR en un volumen final de reacción de 13,0 µl. En la tabla 2, se muestran los volúmenes y concentraciones de cada reactivo utilizado para las amplificaciones mediante PCR.

Tabla 2: Reactivos y sus respectivas concentraciones empleadas para la reacción de PCR.

Reactivo	Concentración inicial	Concentración final	Volumen
Buffer (MgSO ₄) (EmbioTec)	10X	1X	1,3 µl
MgCl ₂ (EmbioTec, Arg)	50,0 mM	5,0 mM	1,3 µl
dNTP mix (Promega, USA)	200,0 µM	4,0 µM	0,26 µl
<i>Primer for</i> (Alpha DNA, USA)	10,0 µM	192,0 nM	0,25 µl
<i>Primer rev</i> (Alpha DNA)	10,0 µM	192,0 nM	0,25 µl
Taq Polimerasa (EmbioTec)	5,0 U.µl ⁻¹	0,5 U	0,1 µl
ADN	10,0 ng.µl ⁻¹	2,3 ng.µl ⁻¹	3,0 µl
Agua bidestilada estéril			6,54 µl

Para las reacciones de amplificación se utilizó un ciclo tipo *touchdown* (Don *et al.*, 1991) que consistió de cinco minutos iniciales a 94 °C para efectuar la desnaturalización de las hebras de ADN y luego durante los primeros diez ciclos de amplificación la temperatura de hibridación de los oligonucleótidos se redujo a razón de un grado centígrado por ciclo, iniciando en 65°C. Durante los 25 ciclos restantes la temperatura de hibridación fue de 55°C. En la Tabla 3 se detalla el programa de ciclado utilizado para amplificar los marcadores moleculares.

Tabla 3: Programa de ciclado para la amplificación de los SSR.

Período	Temperatura	Tiempo	Ciclos
Desnaturalización inicial	94°C	5 minutos	
Desnaturalización	94°C	30 segundos	35
Hibridación de los <i>primers</i>	65°C	30 segundos	10 *
Hibridación de los <i>primers</i>	55°C	30 segundos	25
Extensión	72°C	30 segundos	35
Extensión final	72°C	10 minutos	

* Durante los 10 ciclos la temperatura de hibridación disminuyó 1°C por ciclo.

Para llevar a cabo las reacciones de PCR se utilizaron los termocicladores Veriti® (Life Technologies, Invitrogen, USA), PTC-200 Thermal Cycler (MJ Research, USA) y MyCycler Thermal Cycler (Bio-Rad, USA).

Los productos de amplificación fueron separados mediante electroforesis en geles de poliacrilamida al 6,0% (p/v), con *buffer* TBE 1X (Anexo II, Tabla 39 y Tabla 40). La electroforesis se llevó a cabo en cubas verticales (Bio-Rad, USA) a voltaje constante (55 Watt) y la visualización de los productos de amplificación se realizó mediante tinción con nitrato de plata de acuerdo al protocolo de revelado descrito por Bassam *et al* (1991) (Anexo II, Tabla 41).

2.4.3. INFORMACIÓN SOBRE LOS MARCADORES SSR

Toda la información referida a los marcadores moleculares SSR utilizados para el genotipado de la población de mapeo fue encontrada en la base de datos pública MaizeGDB (<https://www.maizegdb.org>). En la misma se describen la ubicación cromosómica y el bin al que pertenece cada SSR, el tipo de repetición, la composición de la misma y la secuencia de los oligonucleótidos empleados para su amplificación. También se puede determinar la ubicación física de los mismos y las coordenadas, el tamaño en pares de bases y si los marcadores se encuentran localizados dentro de una región correspondiente a un gen o en una región intergénica.

2.4.4. ANÁLISIS DE SEGREGACIÓN DE LOS MARCADORES SSR

El análisis de la segregación de los marcadores se realizó mediante la prueba de chi-cuadrado utilizando el programa GQMOL versión 2008 6.1 (Schuster and Cruz, 2008). Debido a que se empleó una población de RILs, se esperó obtener una segregación mendeliana 1:1 para cada alelo de los marcadores. Sin embargo, dado que la población se encontraba en el estadio F₅ de endocria también fue esperable obtener un 6,25 % aproximadamente de individuos heterocigotas. Dado que este porcentaje implicaba un número bajo de RILs (aproximadamente 9 de 151 individuos), los genotipos heterocigotas no fueron tenidos en cuenta durante el análisis de segregación. Para el respectivo análisis se empleó el criterio FDR (Tasa de Falsos Descubrimientos), el cual es apropiado cuando se desean comparar múltiples hipótesis, dado que en una lista de hipótesis rechazadas el criterio FDR controla la proporción esperada de hipótesis nulas incorrectamente rechazadas (Benjamini and Hochberg, 1995).

2.4.5. CONSTRUCCIÓN DEL MAPA DE LIGAMIENTO

Para la construcción del mapa de ligamiento se emplearon los marcadores SSR que mostraron una segregación 1:1 de acuerdo a la esperada para una población de RILs. Los marcadores que mostraron una segregación estadísticamente distorsionada se descartaron debido a que podrían estimar erróneamente las distancias relativas entre los mismos en un grupo de ligamiento. Para la construcción del mapa se empleó el programa QMOL versión 2008 6.1 (Schuster and Cruz, 2008). Se utilizó un valor mínimo de LOD igual a tres y un porcentaje máximo de recombinación de 30% para confirmar que dos marcadores adyacentes estuviesen ligados. Para transformar las frecuencias de recombinación en unidades de mapeo se utilizó la función de Kosambi (Kosambi, 1944), la cual considera la posible interferencia ocurrida por los dobles entrecruzamientos entre cromátidas. La función de Kosambi puede expresarse de la siguiente manera:

$$- D = \log_e \left(\frac{(1 + 2\theta)}{(1 - 2\theta)} / 4 \right) \quad (11)$$

donde, D: distancia genética entre dos marcadores; θ : fracción de recombinación entre dos marcadores. Esta función modela el efecto de una interferencia positiva, donde la presencia de un quiasma afecta la aparición de otro en una proximidad cercana al primero.

El método de máxima verosimilitud se utilizó para determinar el mejor orden de los marcadores en cada uno de los grupos de ligamiento. Mediante este método el valor LOD o LOD score compara la verosimilitud de un grupo de datos con un número determinado de entrecruzamientos o *crossing over* de un número potencia igual a N entre un par de marcadores, bajo la hipótesis de ligamiento ($\theta < 0,5$, donde θ es la fracción de recombinación entre un par de marcadores adyacentes) versus la misma observación bajo la hipótesis de segregación independiente ($\theta = 0,5$). El método se expresa a partir de la siguiente función:

$$- LOD = Z(\theta) = \log_{10} \left(\frac{(1 - \theta)^{N-r} * \theta^r}{0,5^N} \right) \quad (12)$$

donde, r: número de *crossing over*; N: número potencial de *crossing over*; θ : fracción de recombinación entre dos marcadores.

La función es maximizada cuando $\theta = r/N$ y un valor de LOD > 3 arroja una fuerte evidencia de ligamiento entre dos marcadores. Este valor corresponde a una verosimilitud de observar los datos, dado que dos marcadores no estén ligados, menor a 1/1000 (Cheema and Dicks, 2009).

2.5. MAPEO DE QTLs

Con los datos fenotípicos obtenidos a través de los tres experimentos de evaluación a campo y con el mapa de ligamiento construido como se detalló previamente se llevó a cabo la búsqueda de QTLs. Para esto se emplearon los programas Win QTL Cartographer V 2.5 (Wang *et al.*, 2012a) y QTL Network V 2.0 (Yang *et al.*, 2008) y se aplicaron diferentes métodos de mapeo. En primer lugar, se aplicó el método de mapeo por intervalo compuesto (Zeng, 1994) y se realizó una búsqueda de QTLs para cada carácter de manera separada y para cada ambiente o experimento por separado. Luego se implementó el método *multi trait* o de múltiples caracteres (Jiang and Zeng, 1995) y se realizó un análisis de caracteres múltiples en múltiples ambientes siguiendo el procedimiento utilizado por Álvarez Prado *et al* (2013) y Mandolino *et al* (2016). Por último, se utilizó el programa QTL Network 2.0, el cual implementa un análisis en el marco de referencia de un modelo lineal mixto y hace uso del método III de Henderson (Searle *et al.*, 1992) para construir un estadístico F (Yang *et al.*, 2007). Mediante este modelo fue posible detectar epistasis entre QTLs y la interacción de los mismos con el ambiente. En todos los casos, el valor umbral de significancia de un QTL, ya sea el LOD umbral o el estadístico F, se determinó utilizando el test de 1000 permutaciones descrito por Churchill and Doerge (1994). Con respecto a la posición del QTL, esta fue asignada en el punto en el cual el valor de LOD o del estadístico F arrojó el máximo y el intervalo en el cual estaba comprendido el QTL se obtuvo mediante la disminución en el valor de LOD en una unidad a ambos lados del pico de valor máximo.

2.5.1. MAPEO POR INTERVALO COMPUESTO

Mediante este método se efectuó una búsqueda de regiones genómicas para cada carácter por separado y en cada ambiente de manera independiente. Este método combina el mapeo por intervalos con el análisis por regresión múltiple. Si se intenta buscar un QTL en un intervalo comprendido por dos marcadores ($i, i + 1$), se pueden utilizar esos marcadores como un indicador del genotipo del QTL putativo dentro del intervalo, y el modelo estadístico en el que se basa este método es el siguiente:

$$- y_j = b_0 + b^*x_j^* + \sum_{k \neq i, i+1} b_k x_{jk} + e_j \quad (13)$$

donde, y_j : valor del carácter del j -ésimo individuo, con $j = 1, 2, \dots, n$; b_0 : media del modelo; b^* : efecto del QTL putativo; x^*_j : variable indicadora, que puede tomar un valor de 1 o 0 dependiendo de los genotipos de los marcadores i e $i + 1$; b_k : coeficiente de regresión parcial del fenotipo y sobre el k -ésimo marcador; x_{jk} : coeficiente para el k -ésimo marcador en el j -ésimo individuo, que puede tomar un valor de 1 o 0 dependiendo si el marcador es homocigota o heterocigota; e_j : error aleatorio asociado al j -ésimo individuo.

Asumiendo ausencia de epistasis, la estimación de la posición y de los efectos de un QTL mediante este método no es afectada por otros QTLs ligados si existen marcadores que separan estos QTLs del QTL en consideración y esos marcadores están fijados en el modelo como controles.

Para realizar la búsqueda de QTLs mediante este método se empleó el programa Win QTL Cartographer V 2.5. Se seleccionó el procedimiento Zmapqtl, para efectuar el mapeo por intervalo compuesto y se utilizó el modelo 6 (modelo estándar), con cinco marcadores utilizados como cofactores y el método de regresión *Backward* para la selección de los mismos. Se empleó una velocidad de mapeo de 1 cM y un tamaño de ventana de 10 cM. El valor umbral de LOD se determinó mediante el método de 1000 permutaciones, con un nivel de significancia $\alpha = 0,05$. De esta manera se obtuvo un valor de LOD umbral único para cada carácter en cada ambiente. Luego de ejecutado el programa se obtuvieron las posiciones de los posibles QTLs para cada rasgo en cada experimento, con sus respectivos valores de R^2 (porcentaje de varianza fenotípica explicado por el QTL), efecto aditivo (valor y signo del efecto) y el marcador más cercano al pico máximo del LOD en el intervalo comprendido.

2.5.2. MAPEO DE QTLs MEDIANTE UN MODELO LINEAL MIXTO

Mediante este método se efectuó una búsqueda de QTLs para cada carácter a través de ambientes y además de identificar QTLs con efectos aditivos significativos para cada rasgo a través de los tres experimentos, se detectaron interacciones epistáticas y las interacciones de los QTLs con el ambiente. Para una población de RILs, con un número de experimentos p , si existe un número s de QTLs segregando para un carácter, con un número t de pares de QTLs involucrados en interacciones epistáticas, y considerando a los efectos ambientales como aleatorios, el modelo lineal mixto puede expresarse de la siguiente manera:

$$y_{ij} = \mu + \sum_k^s a_k X_{ki} + \sum_{k,h \in (1, 2, \dots, s), k \neq h}^t aa_{kh} X_{ki} X_{hi} + e_j + \sum_k^s ae_{kj} X_{ki} + \sum_{k,h \in (1, 2, \dots, s), k \neq h}^t aae_{khj} X_{ki} X_{hi} + \varepsilon_{ij} \quad (14)$$

donde, y_{ij} : valor fenotípico de la i -ésima línea en el j -ésimo ambiente; μ : media poblacional; a_k : efecto aditivo del QTL Q_k , un efecto fijo; aa_{kh} : efecto epistático aditivo x aditivo entre los QTLs Q_k y Q_h , un efecto fijo; e_j : efecto principal del j -ésimo ambiente, efecto aleatorio; ae_{kj} : efecto de la interacción aditivo x ambiente entre el QTL Q_k y el ambiente j , efecto aleatorio; aae_{khj} : efecto de la interacción entre el efecto epistático aditivo x aditivo y el ambiente j , efecto aleatorio; ε_{ij} : efecto residual.

Mediante este método se efectuó una prueba F en todo el genoma y cuando los valores excedieron un umbral crítico predefinido se indicó la presencia de un QTL en esa región.

Para realizar la búsqueda de QTLs mediante este método se utilizó el programa QTL Network 2.0. Para la determinación de un valor umbral crítico del estadístico F se empleó el test de 1000 permutaciones (Churchill and Doerge, 1994) con un nivel de significancia de 0,05. La estimación de los parámetros de la ecuación (14) se realizó mediante un método Bayesiano a través del muestreo de Gibbs (Wang *et al.*, 1994) y mediante el empleo del algoritmo MCMC (*Monte Carlo Markov Chain*). Se utilizó un tamaño de ventana de 10 cM y una velocidad de mapeo de 1 cM. Para la selección de intervalos candidatos, para la detección de QTLs putativos y para los efectos de los QTLs, se empleó un nivel de significancia de 0,05.

2.5.3. MAPEO DE CARACTERES MÚLTIPLES

El método de mapeo aplicado fue el descrito por Jiang and Zeng (1995), el cual es un modelo mixturado y consiste en un mapeo por intervalo compuesto para múltiples caracteres. De acuerdo al modelo estadístico de mapeo por intervalo compuesto para un carácter descrito por Zeng (1994), el modelo para el mapeo de múltiples caracteres puede ser planteado de la siguiente manera:

$$\begin{aligned}
& - y_{j1} = b_{01} + b_1^* x_j^* + d_1^* z_j^* + \sum_{l=1}^t (b_{l1} x_{jl} + d_{l1} z_{jl}) + e_{j1}, \\
& - y_{j2} = b_{02} + b_2^* x_j^* + d_2^* z_j^* + \sum_{l=1}^t (b_{l2} x_{jl} + d_{l2} z_{jl}) + e_{j2}, \\
& - \dots \\
& - y_{jm} = b_{0m} + b_m^* x_j^* + d_m^* z_j^* + \sum_{l=1}^t (b_{lm} x_{jl} + d_{lm} z_{jl}) + e_{jm}, \\
& j = 1, \dots, n,
\end{aligned} \tag{15}$$

donde, y_{j1} : valor fenotípico del carácter 1 en el individuo j ; y_{j2} : valor fenotípico del carácter 2 en el individuo j ; y_{jm} : valor fenotípico del carácter m en el individuo j ; b_{01} : efecto medio del modelo para el carácter 1; b_{02} : efecto medio del modelo para el carácter 2; b_{0m} : efecto medio del modelo para el carácter m ; b_1^* : efecto aditivo del QTL putativo sobre el carácter 1; b_2^* : efecto aditivo del QTL putativo sobre el carácter 2; b_m^* : efecto aditivo del QTL putativo sobre el carácter m ; x_j^* : número de alelo en el QTL putativo de una de las dos líneas parentales, tomando los valores 2, 1 o 0 con una probabilidad que depende del genotipo de los marcadores i e $i + 1$ que flanquean al QTL putativo y de la frecuencia de recombinación entre el QTL y los marcadores; d_1^* : efecto de dominancia del QTL putativo sobre el carácter 1; d_2^* : efecto de dominancia del QTL putativo sobre el carácter 2; d_m^* : efecto de dominancia del QTL putativo sobre el carácter m ; z_j^* : indica la heterocigocidad en el QTL tomando los valores de 1 o 0 para heterocigotas y homocigotas; x_{jl} y z_{jl} : variables para el marcador l , asumiendo que un número t de marcadores se seleccionaron para controlar la variación genética residual; b_{lm} y d_{lm} : coeficientes de regresión parcial de y_{jm} sobre x_{jl} y z_{jl} ; e_{j1} : efecto residual sobre el carácter 1 para el individuo j ; e_{j2} : efecto residual sobre el carácter 2 para el individuo j ; e_{jm} : efecto residual sobre el carácter m para el individuo j .

Este modelo asume que los efectos residuales e_{jk} s están correlacionados entre caracteres dentro de individuos con una covarianza $\text{Cov}(e_{jk}, e_{jl}) = \sigma_{kl} = \rho_{kl} \sigma_k \sigma_l$, pero son independientes entre

individuos. Para el análisis de verosimilitud se asume que los errores e_{jk} s son multivariados distribuidos normalmente entre individuos con una media igual a cero y una matriz de covarianza (Jiang and Zeng, 1995).

Para realizar este mapeo se empleó el procedimiento JZmapqtl del programa Win QTL Cartographer V 2.5. El método empleado fue el de mapeo por intervalo compuesto de caracteres múltiples y se utilizó el modelo 6 (modelo estándar) con un tamaño de ventana de 10 cM y con cinco marcadores utilizados como cofactores para controlar la variación genética residual. Se utilizó el método de regresión *forward* y una velocidad de mapeo de 2 cM. Para determinar la significancia de un QTL se realizó el test de 10 permutaciones con un nivel de significancia de 0,05. En el caso de que el valor umbral arrojado por el test de permutaciones fuese demasiado elevado, se utilizó un valor umbral igual a 7 siguiendo el procedimiento descrito por Álvarez Prado *et al* (2013) y Mandolino *et al* (2016).

Los QTLs identificados mediante este método se utilizaron en una segunda etapa para construir un model final Multi-QTL, mediante el cual se estimaron los parámetros asociados a los mismos. En primer lugar se evaluó la significancia de cada QTL para cada carácter en el modelo y luego se estimaron los efectos aditivos de cada uno sobre cada carácter y el porcentaje de varianza fenotípica explicada por el modelo completo de todos los QTLs incluidos sobre cada rasgo. Para esto se utilizó el procedimiento de mapeo por intervalos múltiples para múltiples caracteres (MT-MIM) y se empleó el programa Win QTL Cartographer V 2.5. Se seleccionó el número de caracteres evaluados previamente, el número de QTLs identificados y se agregó el dato referido a la posición de cada uno de estos.

De esta manera se pudo determinar si un QTL poseía efecto aditivo significativo sobre más de un carácter, lo cual explicaría la correlación genotípica. Además, al considerar a un rasgo evaluado en ambientes diferentes como estados diferentes del mismo, se pudo detectar si un QTL determinado poseía efecto sobre un carácter en uno o más ambientes y si la magnitud y el efecto de ese QTL era el mismo o se modificaba de un ambiente a otro.

Para realizar este análisis, los caracteres se agruparon en base a su función. Un grupo estuvo constituido por caracteres relacionados con la arquitectura de canopeo y se buscaron QTLs asociados a estos. Luego se analizaron los rasgos asociados a floración de manera conjunta y otro grupo se conformó con los caracteres asociados a la senescencia en postfloración. Por último se realizó un análisis incluyendo a los rasgos que presentaron una correlación genotípica con BIO y RGP, para determinar el efecto de estos caracteres sobre la producción de biomasa y el rendimiento.

3. RESULTADOS

3.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.1.1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

3.1.1.1. COMPORTAMIENTO DE LAS LÍNEAS PARENTALES

En las Tablas 4 a 6 se muestran los valores medios de cada línea parental para cada carácter en los experimentos 1 y 3 y el promedio a través de repeticiones y ambientes, respectivamente.

Tabla 4: Valores medios obtenidos para las líneas parentales en el Exp1.

Carácter	Unidad	L5605	LP179	MDS Fisher
EA	días	59,50	61,00	ns
ES	días	59,50	62,50	ns
ASI	días	0,00	1,50	ns
AP	cm	110,08	86,50	*
NHT	hojas.pl ⁻¹	20,33	19,33	ns
LE	cm	7,79	7,63	ns
ÁNG	grados	24,78	32,41	*
AFM	cm ²	2664,32	2862,39	ns
IAF	m ² .m ⁻²	2,39	2,57	ns
LMH	cm	56,40	61,07	ns
AMH	cm	6,43	7,48	ns
PHV	días	64,00	95,83	*
PES	días	124,33	156,83	*
TSP1	h.día ⁻¹	0,22	0,12	*
TSP2	cm ² .día ⁻¹	40,78	29,87	*
NHV _F	-	14,17	11,5	*
fRFAl _{max}	-	0,38	0,42	ns
BIO	g.pl ⁻¹	84,25	92,53	ns
RGP	g.pl ⁻¹	20,92	15,42	ns
NGP	granos.pl ⁻¹	77,83	61,00	ns
PG	mg.grano ⁻¹	240,23	246,45	ns
IC	-	0,20	0,15	ns

*: Probabilidad asociada $p < 0,05$ del test MDS de Fisher; ns: no significativo.

EA: periodo emergencia-antesis; ES: periodo emergencia-silking; ASI: intervalo antesis-silking; AP: altura de planta; NHT: número de hojas totales; LE: longitud promedio de los entrenudos; ÁNG: ángulo vertical de inserción foliar; AFM: área foliar verde máximo por planta en floración; IAF: índice de área foliar máximo en floración; LMH: longitud máxima de la hoja; AMH: ancho máximo de la hoja; PHV: persistencia de las hojas verdes en postfloración; PES: periodo emergencia-senescencia; TSP: tasa promedio de senescencia en postfloración; NHV_F: número de hojas verdes en floración; fRFAl_{max}: fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada en floración; BIO: biomasa aérea en madurez fisiológica; RGP: rendimiento en grano por planta; NGP: número de granos por planta; PG: peso del grano; IC: índice de cosecha.

Tabla 5: Valores medios obtenidos para las líneas parentales en el Exp3.

Carácter	Unidad	L5605	LP179	MDS Fisher
EA	días	57,00	63,50	*
ES	días	57,00	63,50	*
ASI	días	0,00	0,00	ns
AP	cm	155,58	139,25	*
NHT	hojas.pl ⁻¹	18,50	18,33	ns
LE	cm	13,21	11,01	*
ÁNG	grados	26,65	37,39	*
AFM	cm ²	3381,47	4765,83	*
IAF	m ² .m ⁻²	3,04	4,28	*
LMH	cm	67,92	81,73	*
AMH	cm	7,37	9,13	*
PHV	días	58,00	72,83	*
PES	días	115,00	136,33	*
TSP1	h.día ⁻¹	0,20	0,17	ns
TSP2	cm ² .día ⁻¹	58,83	69,93	ns
NHV _F	-	11,83	12,67	ns
fRFAl _{max}	-	0,65	0,65	ns
BIO	g.pl ⁻¹	117,85	202,90	*
RGP	g.pl ⁻¹	42,05	61,27	ns
NGP	granos.pl ⁻¹	189,67	222,33	ns
PG	mg.grano ⁻¹	224,34	259,54	ns
IC	-	0,36	0,29	ns

*: Probabilidad asociada $p < 0,05$ del test MDS de Fisher; ns: no significativo.

EA: periodo emergencia-antesis; ES: periodo emergencia-silking; ASI: intervalo antesis-silking; AP: altura de planta; NHT: número de hojas totales; LE: longitud promedio de los entrenudos; ÁNG: ángulo vertical de inserción foliar; AFM: área foliar verde máximo por planta en floración; IAF: índice de área foliar máximo en floración; LMH: longitud máxima de la hoja; AMH: ancho máximo de la hoja; PHV: persistencia de las hojas verdes en postfloración; PES: periodo emergencia-senescencia; TSP: tasa promedio de senescencia en postfloración; NHV_F: número de hojas verdes en floración; fRFAl_{max}: fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada en floración; BIO: biomasa aérea en madurez fisiológica; RGP: rendimiento en grano por planta; NGP: número de granos por planta; PG: peso del grano; IC: índice de cosecha.

Tabla 6: Valores medios de las líneas parentales a través de los tres experimentos.

Carácter	Unidad	L5605	LP179	MDS Fisher
EA	días	58,25	62,25	*
ES	días	58,25	63,00	*
ASI	días	0,00	0,75	ns
AP	cm	134,68	115,20	*
NHT	hojas.pl ⁻¹	18,87	18,80	ns
LE	cm	10,91	9,54	ns
ÁNG	grados	24,73	33,80	*
AFM	cm ²	3265,58	4321,06	*
IAF	m ² .m ⁻²	2,93	3,88	*
LMH	cm	62,96	71,74	*
AMH	cm	6,97	8,44	*
PHV	días	55,66	80,55	*
PES	días	122,11	145,72	*
TSP1	h.día ⁻¹	0,21	0,15	*
TSP2	cm ² .día ⁻¹	59,13	54,13	ns
NHV _F	-	12,44	12,05	ns
fRFAl _{max}	-	0,55	0,53	ns
BIO	g.pl ⁻¹	105,12	154,63	*
RGP	g.pl ⁻¹	36,04	45,96	ns
NGP	granos.pl ⁻¹	146,13	168,33	ns
PG	mg.grano ⁻¹	247,51	261,41	ns
IC	-	0,33	0,28	ns

*: Probabilidad asociada $p < 0,05$ del test MDS de Fisher; ns: no significativo.

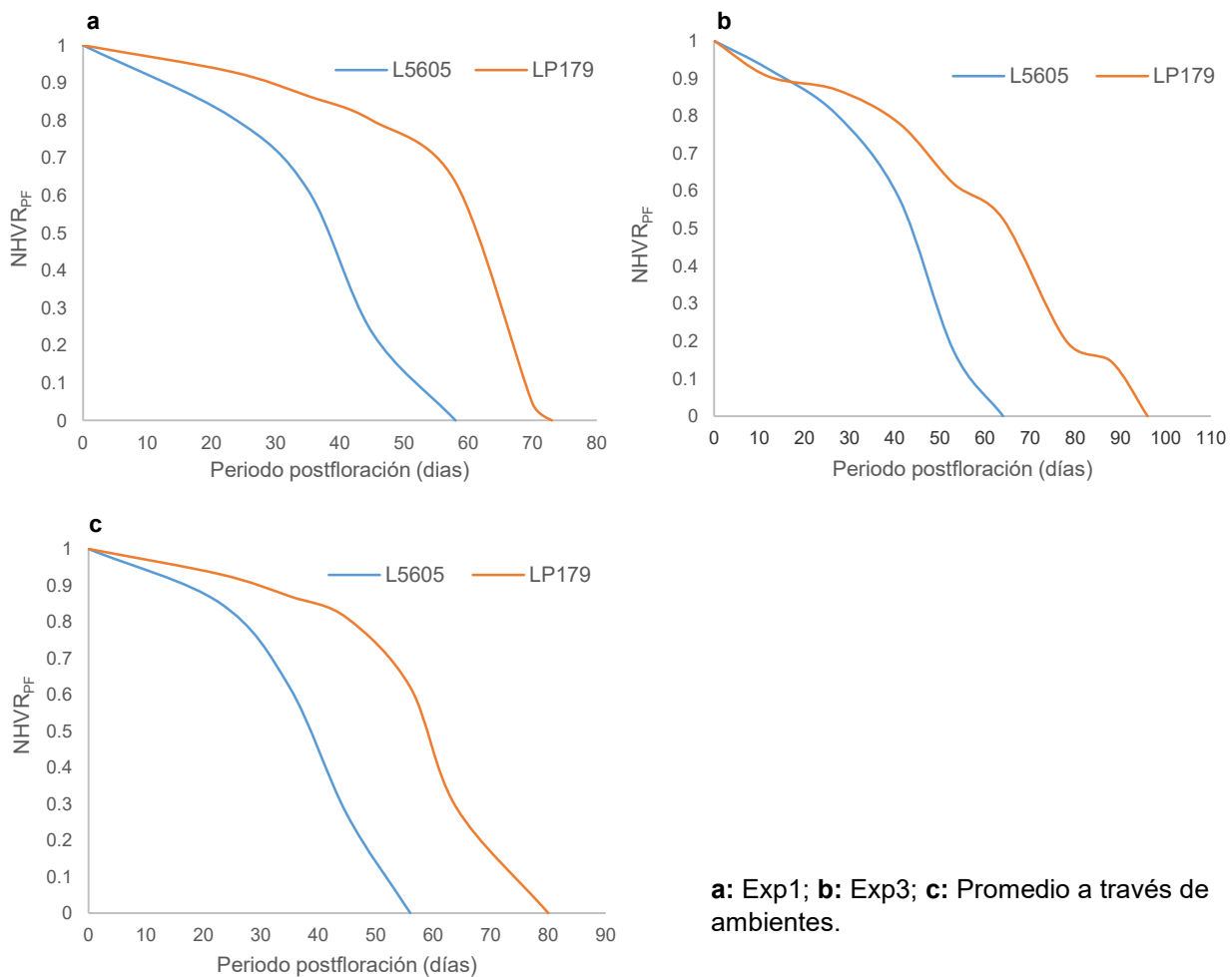
EA: periodo emergencia-antesis; ES: periodo emergencia-silking; ASI: intervalo antesis-silking; AP: altura de planta; NHT: número de hojas totales; LE: longitud promedio de los entrenudos; ÁNG: ángulo vertical de inserción foliar; AFM: área foliar verde máximo por planta en floración; IAF: índice de área foliar máximo en floración; LMH: longitud máxima de la hoja; AMH: ancho máximo de la hoja; PHV: persistencia de las hojas verdes en postfloración; PES: periodo emergencia-senescencia; TSP: tasa promedio de senescencia en postfloración; NHV_F: número de hojas verdes en floración; fRFAl_{max}: fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada en floración; BIO: biomasa aérea en madurez fisiológica; RGP: rendimiento en grano por planta; NGP: número de granos por planta; PG: peso del grano; IC: índice de cosecha.

Las líneas parentales mostraron diferencias significativas para los rasgos AP, ÁNG, PHV, PES, TSP y NHV_F en el Exp1. En el Exp3 mostraron diferencias significativas en EA, ES, AP, LE, ÁNG, AFM, IAF, LMH, AMH, PHV, PES y BIO. A través de los tres ambientes mostraron diferencias significativas para los rasgos EA, ES, AP, ÁNG, AFM, IAF, LMH, AMH, PHV, PES, TSP1 y BIO. De acuerdo a los resultados obtenidos en los tres experimentos y con los valores medios a través

de los tres ambientes, la línea parental L5605 presentó mayor altura de planta que LP179 y menor ángulo de inserción foliar. La línea LP179 tuvo mayores valores de IAF y AFM como resultado de valores mayores de LMH y AMH. Además, mostró mayor persistencia de hojas verdes en postfloración, indicando poseer una senescencia más retrasada en dicho periodo. Los promedios a través de repeticiones y ambientes no mostraron diferencias significativas entre las líneas parentales para RGP, NGP y PG, pero si el promedio para BIO, siendo mayor el de la línea LP179. Además, la línea LP179 posee un ciclo de vida más largo que L5605, evidenciado por su promedio de PES.

En la Figura 1, se muestra la evolución del NHVR en el periodo de postfloración de las líneas parentales en el Exp1, Exp3 y a través de los tres ambientes, respectivamente.

Figura 1: Evolución del $NHVR_{PF}$ en las líneas parentales en el Exp1, Exp3 y a través de ambientes.



La senescencia en la línea parental LP179 progresó más lentamente durante el periodo de postfloración por cuanto mantuvo sus hojas verdes por más tiempo. En el Exp1, cuando la línea L5605 había senescido completamente, la línea LP179 aún conservaba más del 50% de sus hojas verdes (Figura 1a). En el Exp3, L5605 senesció completamente a los 58 días mientras LP179 mantenía más del 60% de sus hojas fotosintéticamente activas (Figura 1b). En la figura 1c, donde se muestra la evolución del $NHVR_{PF}$ con el dato promedio de los tres ambientes, puede observarse que cuando L5605 senesció completamente, LP179 conservaba más del 60% de sus hojas verdes.

3.1.1.2. EVALUACIÓN DE LA POBLACIÓN DE RILs

En las Tablas 7 a 10 se muestran los valores de las medidas de resumen para cada uno de los caracteres en los Exp1 y 3, los valores observados en el Exp2 para la única repetición evaluada y los promedios a través de repeticiones y ambientes, respectivamente.

Tabla 7: Medidas de resumen de los caracteres evaluados en el Exp1.

Variable	Unidad	N	Media	Mín	Máx	Mediana	DE	EE	CV
EA	días	138	63,98	56,50	74,50	64,00	3,02	0,26	4,71
ES	días	138	65,96	57,00	75,00	66,00	2,87	0,24	4,35
ASI	días	138	1,95	-4,00	7,00	2,00	1,89	0,16	96,64
AP	cm	138	88,01	66,60	114,50	87,85	11,42	0,97	12,98
NHT	hojas.pl ⁻¹	138	20,24	17,30	23,15	20,15	1,18	0,10	5,85
LE	cm	138	7,27	5,05	10,44	7,25	1,07	0,09	14,76
ÁNG	grados	138	26,85	13,35	55,40	26,03	6,45	0,55	24,01
AFM	cm ²	138	2836,72	1693,00	4305,10	2808,65	590,92	50,30	20,83
IAF	m ² .m ⁻²	138	2,55	1,52	3,87	2,53	0,53	0,05	20,83
LMH	cm	138	54,01	39,00	66,65	54,60	5,29	0,45	9,79
AMH	cm	138	6,84	5,15	8,70	6,80	0,81	0,07	11,83
PHV	días	138	71,67	38,70	97,80	73,18	9,83	0,84	13,72
PES	días	138	135,62	100,35	161,30	137,85	10,61	0,90	7,82
TSP1	h.día ⁻¹	138	0,18	0,12	0,37	0,17	0,04	0,0032	21,60
TSP2	cm ² .día ⁻¹	138	40,29	22,28	71,81	38,48	9,60	0,82	23,82
fRFAI _{max}	-	138	0,37	0,07	0,68	0,38	0,13	0,01	35,65
BIO	g.pl ⁻¹	138	77,70	35,30	131,00	77,03	19,00	1,62	24,46
RGP	g.pl ⁻¹	138	14,50	0,09	53,45	11,32	10,89	0,93	75,13
NGP	granos.pl ⁻¹	138	70,79	0,30	230,50	55,85	51,82	4,41	73,20
PG	mg.grano ⁻¹	138	193,91	102,30	270,70	195,30	33,56	2,86	17,31
IC	-	138	0,16	0,002	0,43	0,14	0,10	0,01	63,31

N: número de RILs evaluadas en el Exp 1; Mín: valor mínimo; Máx: valor máximo; DE: desvío estándar; EE: error estándar; CV: coeficiente de variación.

Tabla 8: Medidas de resumen de los caracteres evaluados en el Exp 2.

Variable	Unidad	N	Media	Mín	Máx	Mediana	DE	EE	CV
AP	cm	130	127,32	71,00	178,80	125,25	19,18	1,68	15,07
NHT	hojas.pl ⁻¹	130	18,00	13,70	21,00	18,00	1,52	0,13	8,44
LE	cm	130	11,30	8,00	14,83	11,12	1,43	0,13	12,69
ÁNG	grados	130	25,48	13,10	54,60	24,45	7,12	0,62	27,96
AFM	cm ²	130	4105,70	2567,30	6716,10	4037,50	796,66	69,87	19,40
IAF	m ² .m ⁻²	130	3,70	2,31	6,04	3,63	0,72	0,06	19,40
LMH	cm	130	64,26	54,70	79,40	64,80	5,20	0,46	8,02
AMH	cm	130	8,23	6,40	11,10	8,20	0,87	0,08	10,55
PHV	días	130	57,78	45,00	77,00	56,00	8,19	0,72	14,18
PES	días	130	132,20	116,00	153,00	132,00	8,42	0,74	6,37
TSP1	h.día ⁻¹	130	0,20	0,12	0,29	0,20	0,04	0,0032	18,34
TSP2	cm ² .día ⁻¹	130	72,43	38,44	138,36	69,55	17,35	1,53	23,96
fRFAI _{max}	-	130	0,53	0,21	0,81	0,54	0,12	0,01	22,02
BIO	g.pl ⁻¹	130	135,45	67,20	225,70	133,70	29,63	2,60	21,87
RGP	g.pl ⁻¹	130	45,15	2,90	97,40	45,25	20,52	1,80	45,44
NGP	granos.pl ⁻¹	130	216,93	13,70	496,70	214,65	98,62	8,65	45,46
PG	mg.grano ⁻¹	130	208,80	121,30	321,30	208,95	33,65	2,95	16,12
IC	-	130	0,31	0,03	0,53	0,33	0,12	0,01	37,17

N: número de RILs evaluadas en el Exp 2; Mín: valor mínimo; Máx: valor máximo; DE: desvío estándar; EE: error estándar; CV: coeficiente de variación.

Tabla 9: Medidas de resumen de los caracteres evaluados en el Exp3.

Variable	Unidad	N	Media	Mín	Máx	Mediana	DE	EE	CV
EA	días	133	63,22	58,00	68,50	63,00	1,88	0,16	2,98
ES	días	133	64,65	59,00	70,00	64,50	2,05	0,18	3,17
ASI	días	133	1,40	-1,50	5,50	1,50	1,51	0,13	108,14
AP	cm	133	145,06	101,30	189,20	142,60	17,89	1,55	12,33
NHT	hojas.pl ⁻¹	133	19,25	15,80	22,00	19,15	1,20	0,10	6,24
LE	cm	133	12,11	8,30	16,40	12,00	1,66	0,14	13,68
ÁNG	grados	133	29,61	17,00	54,20	27,70	7,73	0,67	26,11
AFM	cm ²	133	3908,35	2635,64	5716,53	3919,48	615,74	53,39	15,75
IAF	m ² .m ⁻²	133	3,52	2,37	5,14	3,53	0,55	0,05	15,75
LMH	cm	133	70,56	57,90	86,45	70,15	5,13	0,45	7,27
AMH	cm	133	8,01	6,45	9,80	7,90	0,75	0,06	9,33
PHV	días	133	62,98	38,30	79,30	62,30	6,83	0,59	10,85
PES	días	133	126,23	101,30	143,00	126,80	7,03	0,61	5,57
TSP1	h.día ⁻¹	133	0,19	0,15	0,28	0,19	0,03	0,0023	13,87
TSP2	cm ² .día ⁻¹	133	63,29	42,22	109,00	63,38	12,90	1,12	20,39
fRFAl _{max}	-	133	0,77	0,55	0,92	0,78	0,07	0,01	9,55
BIO	g.pl ⁻¹	133	121,45	72,25	179,45	120,25	20,91	1,81	17,22
RGP	g.pl ⁻¹	133	36,59	0,00	73,00	36,25	14,19	1,23	38,78
NGP	granos.pl ⁻¹	133	203,58	0,00	374,30	207,30	75,99	6,59	37,33
PG	mg.grano ⁻¹	133	178,00	83,20	249,05	181,88	27,95	2,43	15,70
IC	-	133	0,28	0,00	0,45	0,30	0,10	0,01	34,04

N: número de RILs evaluadas en el Exp 3; Mín: valor mínimo; Máx: valor máximo; DE: desvío estándar; EE: error estándar; CV: coeficiente de variación.

Tabla 10: Medidas de resumen de los caracteres evaluados con los datos promedios a través de los tres ambientes.

Variable	Unidad	N	Media	Mín	Máx	Mediana	DE	EE	CV
EA	días	151	63,61	56,50	72,00	63,50	2,14	0,39	2,09
ES	días	151	65,28	57,00	71,50	65,25	2,12	0,40	2,03
ASI	días	151	1,67	-2,25	5,75	1,75	1,45	0,27	66,46
AP	cm	151	117,37	67,05	163,48	118,83	12,33	3,94	10,26
NHT	hojas.pl ⁻¹	151	19,25	16,05	21,80	19,20	0,97	0,31	5,06
LE	cm	151	9,94	5,08	13,28	10,07	1,04	0,34	10,17
ÁNG	grados	151	27,24	15,27	52,52	25,77	5,31	1,73	19,44
AFM	cm ²	151	3567,79	1892,10	5613,32	3534,80	503,22	163,13	13,91
IAF	m ² .m ⁻²	151	3,21	1,70	5,05	3,18	0,45	0,14	13,84
LMH	cm	151	62,51	46,15	77,50	63,07	3,88	1,27	6,21
AMH	cm	151	7,63	5,75	9,68	7,57	0,60	0,19	7,86
PHV	días	151	64,15	38,70	83,53	64,72	6,25	2,02	9,74
PES	días	151	130,96	100,35	151,87	131,60	6,57	2,12	5,01
TSP1	h.día ⁻¹	151	0,19	0,14	0,37	0,19	0,027	0,0089	14,21
TSP2	cm ² .día ⁻¹	151	57,78	26,68	107,69	56,35	10,19	3,24	17,63
fRFAI _{max}	-	151	0,55	0,15	0,76	0,56	0,082	0,026	14,90
BIO	g.pl ⁻¹	151	108,32	45,80	192,98	110,10	17,64	5,66	16,28
RGP	g.pl ⁻¹	151	30,11	0,00	77,88	30,99	11,73	3,71	38,95
NGP	granos.pl ⁻¹	151	154,14	0,00	363,05	163,58	58,12	18,43	37,70
PG	mg.grano ⁻¹	151	193,01	123,87	258,10	193,76	23,46	7,77	12,15
IC	-	151	0,24	0,00	0,42	0,26	0,079	0,026	32,91

N: número de RILs evaluadas; Mín: valor mínimo; Máx: valor máximo; DE: desvío estándar; EE: error estándar; CV: coeficiente de variación.

En el Exp1 durante la campaña 2013/2014 las condiciones climáticas fueron adversas para el crecimiento de la población de RILs. Desde la emergencia hasta el inicio del periodo crítico llovieron solamente 141 mm y las temperaturas fueron muy elevadas, reflejadas en altos valores de temperatura máxima y media (31,3°C y 24,1°C). Por lo tanto las plantas estuvieron expuestas a un estrés hídrico significativo que afectó el crecimiento vegetativo dando como resultado bajos valores de AP, LMH y AMH y por lo tanto un bajo valor de área foliar por planta e IAF. Como consecuencia de esto las RILs no llegaron a desarrollar un canopy lo suficientemente importante como para interceptar un alto porcentaje de la radiación incidente ($fRFAI_{max} = 0,37$).

Durante el periodo crítico (fecha promedio de floración ± 15 días), el total de precipitaciones fue de 440 mm, sin embargo al comienzo de dicho periodo, desde el 12 hasta el 20 de enero las precipitaciones fueron muy escasas, sumado a las altas temperaturas registradas, lo cual habría reducido la tasa de crecimiento de las plantas, afectando la fijación de granos, dando como resultado valores bajos de RGP y NGP. El bajo valor medio de BIO reflejó tales limitaciones para el crecimiento de las plantas y la acumulación de materia seca.

Durante el periodo de llenado de granos, las precipitaciones totales fueron 344 mm y la temperatura media promedio disminuyó significativamente (18,6°C). Debido a la baja tasa de crecimiento de las plantas durante el periodo crítico, pudo haberse visto afectado el peso potencial de los granos, dando como resultado un bajo valor promedio del mismo. En el anexo V, Figuras 17 y 18 se muestran el régimen de precipitaciones y la variación en las temperaturas máximas, mínimas y medias durante el ciclo de cultivo correspondiente al Exp1.

En el Exp2 la primera repetición del ensayo se sembró el 24/10/2014 y la segunda el 28/10/2014. Luego de sembrar la segunda repetición llovieron 141 mm (Anexo V, Figura 19). Esto ocasionó anegamientos y posterior endurecimiento de la superficie del suelo que interfirió en la normal emergencia de las plantas en la misma. Por lo tanto, la emergencia no fue la adecuada y al no obtenerse la densidad de plantas requerida para la evaluación esta repetición no se empleó para las mediciones fenotípicas. En este ensayo se evaluó la primera repetición solamente, la cual a su vez se utilizó para multiplicar semillas para repetir el experimento en la campaña siguiente. Al evaluar una sola repetición, no se pudo llevar a cabo el test de comparación de medias (no es posible obtener una estimación del error experimental) y determinar si las líneas parentales mostraron diferencias significativas en los valores medios de los caracteres evaluados. De todas maneras las condiciones climáticas fueron favorables. Desde la fecha de siembra hasta inicios del periodo crítico (15 de enero ± 15 días) llovieron 410 mm y las RILs no sufrieron periodos de estrés hídrico, dando como resultado altos valores de AP, LMH, AMH, AFM e IAF. A su vez,

el valor promedio de $fRFAI_{max}$ fue mayor con respecto al Exp1 (0,53). Durante el periodo crítico (1 de enero a 30 de enero) llovieron 188 mm lo cual favoreció la fijación de un elevado NGP, dando como resultado altos valores de BIO y RGP. Durante el periodo de llenado de granos las precipitaciones fueron menores (89 mm), sin embargo, el PG promedio fue mayor al del Exp1, posiblemente debido a que las condiciones favorables durante el periodo crítico hicieron posible que las plantas tuviesen una tasa de crecimiento elevada como para fijar granos con un tamaño potencial alto y esto sumado al gran desarrollo vegetativo dio como resultado una alta tasa de llenado de granos en el periodo de postfloración. En cuanto a la temperatura máxima promedio, fue levemente mayor a la del Exp1 (28,2°C en Exp2 y 27,4°C en Exp1), sin embargo fue menor durante el periodo de emergencia a floración con respecto al ensayo anterior (28,5°C en Exp2 y 31,3°C en Exp1). Con respecto a la temperatura media durante todo el ciclo, fue la misma en ambos experimentos (21,2°C), pero durante el periodo de llenado de granos fue mayor en el Exp2 (20,8°C) con respecto al Exp1 (18,6°C). En el primer ensayo las temperaturas fueron muy altas durante el periodo de emergencia a floración y el periodo crítico, pero disminuyó más marcadamente durante el periodo de llenado de granos, en cambio en el Exp2 las temperaturas fueron más homogéneas durante todo el ciclo del cultivo. En el anexo V, Figura 20, se muestra la variación en las temperaturas máxima, media y mínima durante el ciclo de cultivo en el Exp2. En este experimento los rasgos asociados a floración (EA, ES y ASI) no se evaluaron debido a que en el momento en que las RILs alcanzaron el estadio de floración se comenzaron a efectuar las operaciones de autofecundación para multiplicar semillas y poder repetir el ensayo en la campaña siguiente.

En el Exp3 desde la emergencia hasta inicios del periodo crítico llovieron 229 mm con precipitaciones homogéneamente distribuidas lo cual hizo que las plantas no estuviesen expuestas a estrés hídrico (Anexo V, Figura 21). Como resultado de esto las RILs tuvieron un buen crecimiento vegetativo, con valores promedios elevados de AP, LMH, AMH, AFM e IAF. Además la $fRFAI_{max}$ fue la mayor de los tres ensayos (0,77). Durante el periodo crítico, llovieron 106 mm, de los cuales 86 mm tuvieron lugar en un solo día al inicio del mismo y los restantes 20 mm se distribuyeron en los 28 días siguientes. Esto no afectó la fijación de granos, dado que el NGP promedio fue similar al del Exp2 (216,93 en el Exp2 y 203,58 en el Exp3) pero el RGP promedio fue menor en este ensayo con respecto al ensayo anterior (45,15 g.pl⁻¹ en el Exp2 y 36,59 g.pl⁻¹ en el Exp3) debido a diferencias en el PG promedio (208,8 mg.grano⁻¹ en Exp2 y 178,0 mg.grano⁻¹ en el Exp3). Durante el periodo de llenado de granos llovieron 271 mm, por lo tanto las plantas no estuvieron expuestas a un estrés hídrico durante esta fase de crecimiento.

Por lo tanto las diferencias en el PG promedio podrían ser una causa de las bajas precipitaciones al final del periodo crítico, lo cual pudo haber afectado la tasa de crecimiento al final del mismo dando como resultado una menor tasa de crecimiento por grano fijado, afectando el PG potencial a inicios del llenado.

Las temperaturas máximas y media durante todo el ciclo de cultivo fueron similares a los dos ensayos anteriores (Anexo V, Figura 22). Desde la emergencia hasta inicios del periodo crítico las temperaturas máximas y media fueron mayores a las del Exp2 (29,2°C y 22,4°C en Exp3; 28,2°C y 21,2°C en el Exp2) y menores a las del Exp1 (31,3°C y 24,1°C) y durante el periodo de llenado de granos la temperatura media fue de 21,9°C, mayor a la de los dos ensayos anteriores (20,8°C en Exp2 y 18,6°C en Exp1).

3.1.2. ANÁLISIS DE LA DISTRIBUCIÓN NORMAL

En las Tablas 11 a 13 se muestran los valores de asimetría y kurtosis de cada rasgo y el resultado del test de normalidad, para los experimentos 1, 2 y 3 respectivamente.

Tabla 11: Valores de asimetría, kurtosis y test Shapiro-Wilks modificado para los caracteres evaluados en el Exp1.

Variable	Unidad	N	Asimetría	Kurtosis	N _{sw}
EA	días	138	0,60	1,06	ns
ES	días	138	-0,01	0,92	ns
ASI	días	138	-0,23	0,52	ns
AP	cm	138	-0,08	-0,76	*
NHT	hojas.pl ⁻¹	138	0,05	-0,30	ns
LE	cm	138	0,37	0,02	ns
ÁNG	grados	138	1,03	2,52	*
AFM	cm ²	138	0,27	-0,44	ns
IAF	m ² .m ⁻²	138	0,27	-0,44	ns
LMH	cm	138	-0,07	-0,07	ns
AMH	cm	138	0,28	-0,42	ns
PHV	días	138	-0,68	1,53	**
PES	días	138	-0,89	1,32	**
TSP1	h.día ⁻¹	138	1,90	5,86	**
TSP2	cm ² .día ⁻¹	138	0,80	0,36	**
fRFAl _{max}	-	138	0,12	-0,31	ns
BIO	g.pl ⁻¹	138	0,10	-0,41	ns
RGP	g.pl ⁻¹	138	1,04	0,60	**
NGP	granos.pl ⁻¹	138	1,02	0,37	**
PG	mg.grano ⁻¹	138	-0,13	-0,15	ns
IC	-	138	0,69	-0,34	**

N_{sw}: test de Shapiro-Wilks modificado; *: Probabilidad asociada p<0,01; **: Probabilidad asociada p<0.0001; ns: no significativo.

En el Exp1, los caracteres AP y ÁNG no mostraron distribución normal (p<0,01), al igual que los caracteres PHV, PES, TSP1, TSP2, RGP, NGP e IC (p<0,0001), aunque los valores de probabilidad asociada de estos últimos indica que su distribución estuvo más alejada de la normal con respecto a los dos primeros. En el anexo III, Figura 14, se muestran los histogramas correspondientes a la distribución fenotípica de los caracteres evaluados en el Exp1.

Tabla 12: Valores de asimetría, kurtosis y test Shapiro-Wilks modificado para los caracteres evaluados en el Exp2.

Variable	Unidad	N	Asimetría	Kurtosis	N _{SW}
AP	cm	130	0,23	-0,14	ns
NHT	hojas.pl ⁻¹	130	-0,21	-0,27	ns
LE	cm	130	0,03	-0,60	ns
ÁNG	grados	130	0,95	1,60	**
AFM	cm ²	130	0,77	0,50	**
IAF	m ² .m ⁻²	130	0,77	0,50	**
LMH	cm	130	0,19	-0,23	ns
AMH	cm	130	0,43	0,00024	ns
PHV	días	130	0,48	-0,31	**
PES	días	130	0,37	-0,19	*
TSP1	h.día ⁻¹	130	0,12	-0,58	ns
TSP2	cm ² .día ⁻¹	130	1,07	1,84	**
fRFAI _{max}	-	130	-0,40	0,40	ns
BIO	g.pl ⁻¹	130	0,47	0,16	ns
RGP	g.pl ⁻¹	130	0,11	-0,47	ns
NGP	granos.pl ⁻¹	130	0,18	-0,17	ns
PG	mg.grano ⁻¹	130	0,18	0,52	ns
IC	-	130	-0,50	-0,56	**

N_{SW}: test de Shapiro-Wilks modificado; *: Probabilidad asociada p<0,01; **: Probabilidad asociada p<0.0001; ns: no significativo.

En el Exp2 los caracteres ÁNG, AFM, IAF, PHV, TSP2 e IC mostraron una distribución fenotípica alejada de la normal, con valores de probabilidad asociada del test estadístico p<0,0001. En el anexo III, Figura 15, se muestran los histogramas correspondientes a la distribución fenotípica de los caracteres en el Exp2.

Tabla 13: Valores de asimetría, kurtosis y test Shapiro-Wilks modificado para los caracteres evaluados en el Exp3.

Variable	Unidad	N	Asimetría	Kurtosis	N _{sw}
EA	días	133	-0,23	0,07	ns
ES	días	133	0,37	0,03	*
ASI	días	133	0,52	-0,11	**
AP	cm	133	0,19	-0,12	ns
NHT	hojas.pl ⁻¹	133	-0,07	-0,02	ns
LE	cm	133	0,31	-0,16	ns
ÁNG	grados	133	0,75	-0,01	**
AFM	cm ²	133	0,48	0,31	ns
IAF	m ² -m ⁻²	133	0,48	0,31	ns
LMH	cm	133	0,34	0,33	ns
AMH	cm	133	0,39	-0,30	*
PHV	días	133	-0,31	1,46	ns
PES	días	133	-0,41	1,35	ns
TSP1	h.día ⁻¹	133	0,57	0,23	ns
TSP2	cm ² .día ⁻¹	133	0,73	0,67	*
fRFAI _{max}	-	133	-0,56	0,31	ns
BIO	g.pl ⁻¹	133	0,38	0,05	ns
RGP	g.pl ⁻¹	133	-0,05	-0,19	ns
NGP	granos.pl ⁻¹	133	-0,29	-0,51	ns
PG	mg.grano ⁻¹	133	-0,09	0,23	ns
IC	-	133	-0,67	-0,20	**

N_{sw}: test de Shapiro-Wilks modificado; *: Probabilidad asociada p<0,01; **: Probabilidad asociada p<0.0001; ns: no significativo.

En el Exp3, los caracteres ASI, ÁNG e IC mostraron una distribución fenotípica alejada de la normal con valores de probabilidad asociada del test estadístico p<0,0001. Los caracteres ES, AMH y TSP2 no presentaron distribución normal de acuerdo al test estadístico (p<0,01) pero de acuerdo a los valores de asimetría y kurtosis, la distribución fenotípica no difiere marcadamente de la normal. En el anexo III, Figura 16, se muestran los histogramas de distribución fenotípica de los caracteres evaluados en el Exp3.

3.1.3. ANÁLISIS DE LAS SEGREGACIONES TRANSGRESIVAS

En la Tabla 14 se muestran los resultados correspondientes al análisis de las segregaciones transgresivas.

Tabla 14: Segregación transgresiva de la población de RILs con respecto a las líneas parentales.

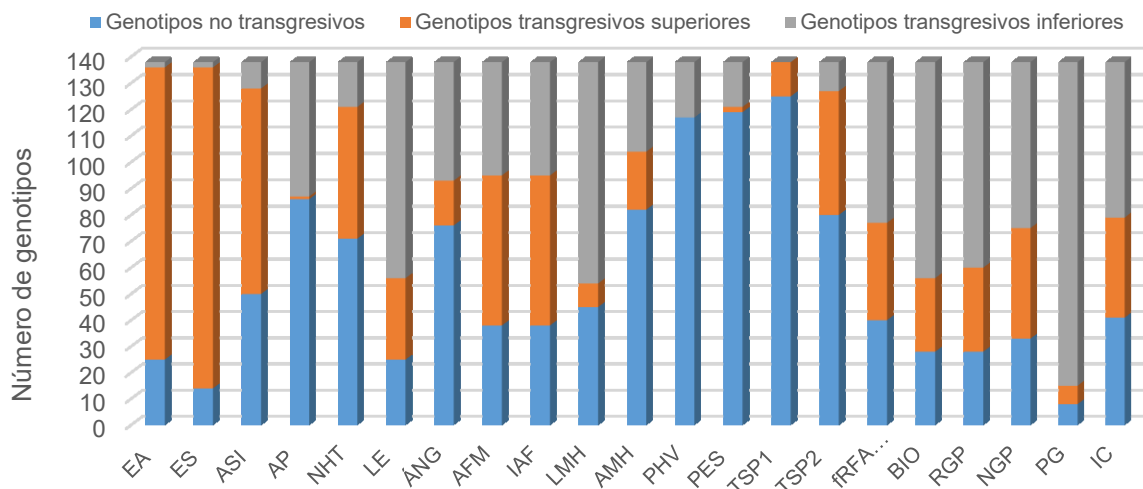
Variable	Exp	ST _w	Exp	ST _w	Exp	ST _w
EA		**		*		**
ES		**		*		**
ASI		**		**		**
AP		**		**		**
NHT		**		**		**
LE		**		**		**
ÁNG		**		**		**
AFM		**		**		**
IAF		**		**		**
LMH	1	**	3	**	Promedio	**
AMH		**		**		**
PHV		*		**		*
PES		**		**		**
TSP1		*		**		*
TSP2		**		**		**
fRFAI _{max}		**		**		**
BIO		**		*		**
RGP		**		**		**
NGP		**		**		**
PG		**		*		*
IC		**		**		**

ST_w: prueba de segregación transgresiva según Wolyn *et al* (2004); **: Segregación transgresiva hacia ambos extremos de la distribución; *: Segregación transgresiva hacia un extremo de la distribución.

En el Exp2, debido a que no se pudieron determinar las diferencias medias significativas entre las líneas parentales, se optó por no analizar las segregaciones transgresivas. En los experimentos restantes todos los caracteres mostraron segregación transgresiva hacia ambos extremos de la distribución fenotípica, excepto el carácter PHV en el Exp1, que presentó segregación transgresiva hacia el extremo inferior de la distribución porque la línea parental LP179 tuvo los valores mayores de persistencia. Además, en este experimento el carácter TSP1

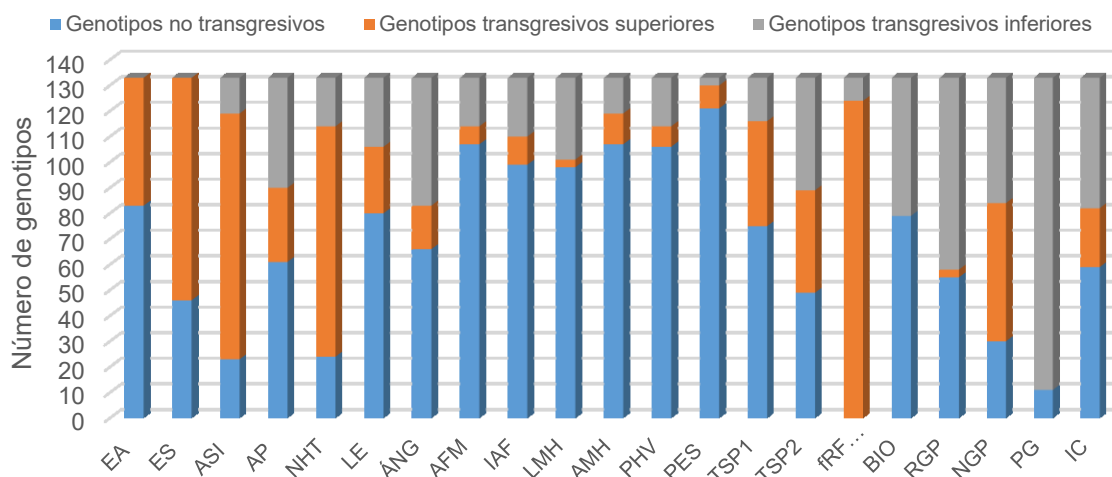
mostró segregación transgresiva solamente hacia los valores superiores de la distribución debido a que la línea parental LP179 presentó la menor tasa promedio de senescencia. En el Exp3, los caracteres EA y ES presentaron segregación transgresiva solamente hacia los valores mayores de la distribución, dado que la línea parental L5605 es la que menos días tardó en llegar a floración masculina y femenina. Además, los caracteres BIO y PG también presentaron segregación transgresiva hacia uno de los extremos de la distribución solamente, debido a que la línea parental LP179 arrojó los mayores valores de estos rasgos. Con respecto al dato promedio de los tres ambientes, para todos los rasgos existió segregación transgresiva hacia ambos extremos excepto para PHV, TSP1 y PG, debido a que la línea LP179 presentó los valores mayores de PHV y PG, y el menor valor de TSP1. En las Figuras 2, 3 y 4 se muestran las proporciones de genotipos transgresivos y no transgresivos para cada rasgo en Exp1, Exp3 y a través de ambientes, respectivamente.

Figura 2: Número de genotipos transgresivos y no transgresivos para cada carácter en el Exp1.



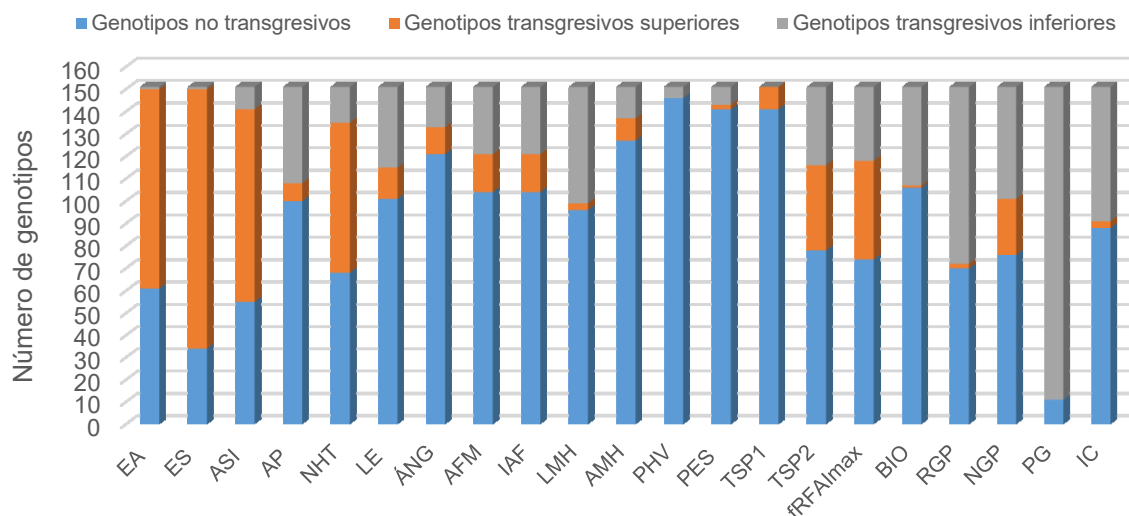
EA: Periodo emergencia-antesis; ES: periodo emergencia-silking; ASI: intervalo antesis-silking; AP: altura de planta; NHT: número de hojas totales; LE: longitud promedio de entrenudos; ANG: ángulo vertical de inserción foliar; AFM: área foliar verde máximo por planta; IAF: índice de área foliar verde máximo; LMH: longitud máxima de la hoja; AMH: ancho máximo de la hoja; PHV: persistencia de hojas verdes en postfloración; PES: periodo emergencia-senescencia; TSP1: tasa promedio de senescencia en postfloración; TSP2: tasa promedio de senescencia en postfloración; fRFA_{max}: fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada; BIO: biomasa aérea en madurez fisiológica; RGP: rendimiento en grano por planta; NGP: número de granos por planta; PG: peso del grano; IC: índice de cosecha.

Figura 3: Número de genotipos transgresivos y no transgresivos para cada carácter en el Exp3.



EA: Periodo emergencia-antesis; ES: periodo emergencia-silking; ASI: intervalo antesis-silking; AP: altura de planta; NHT: número de hojas totales; LE: longitud promedio de entrenudos; ANG: ángulo vertical de inserción foliar; AFM: área foliar verde máximo por planta; IAF: índice de área foliar verde máximo; LMH: longitud máxima de la hoja; AMH: ancho máximo de la hoja; PHV: persistencia de hojas verdes en postfloración; PES: periodo emergencia-senescencia; TSP: tasa promedio de senescencia en postfloración; fRF_{max}: fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada; BIO: biomasa aérea en madurez fisiológica; RGP: rendimiento en grano por planta; NGP: número de granos por planta; PG: peso del grano; IC: índice de cosecha.

Figura 4: Número de genotipos transgresivos y no transgresivos para cada carácter a través de ambientes.



EA: Periodo emergencia-antesis; ES: periodo emergencia-silking; ASI: intervalo antesis-silking; AP: altura de planta; NHT: número de hojas totales; LE: longitud promedio de entrenudos; ÁNG: ángulo vertical de inserción foliar; AFM: área foliar verde máximo por planta; IAF: índice de área foliar verde máxima; LMH: longitud máxima de la hoja; AMH: ancho máximo de la hoja; PHV: persistencia de hojas verdes en postfloración; PES: periodo emergencia-senescencia; TSP: tasa promedio de senescencia en postfloración; fRFAI_{max}: fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada; BIO: biomasa aérea en madurez fisiológica; RGP: rendimiento en grano por planta; NGP: número de granos por planta; PG: peso del grano; IC: índice de cosecha.

En los caracteres para los cuales las líneas parentales no se diferenciaron significativamente, hubo una mayor cantidad de genotipos transgresivos. Por ejemplo, para el carácter ASI, tanto en el Exp1 como en el Exp3 hubo una gran proporción de genotipos transgresivos superiores debido a que ambas líneas parentales poseen una asincronía floral baja. En el caso del ÁNG, en los dos ensayos la proporción de individuos transgresivos y no transgresivos fue similar, siendo levemente mayor el número de los últimos. Para los rasgos AFM e IAF en el Exp1 se observó una mayor cantidad de genotipos transgresivos dado que las líneas parentales no mostraron una respuesta diferenciada y en el Exp3 se observó la mayor cantidad de individuos no transgresivos debido a que las líneas parentales tuvieron un comportamiento casi contrastante. El AMH, es el rasgo asociado al área foliar que mostró la mayor proporción de genotipos no transgresivos en los dos experimentos, debido a que las líneas parentales difieren más marcadamente en este atributo con respecto a la LMH. En el caso de los caracteres PHV, PES y TSP1, en los dos ensayos se observó una baja proporción de genotipos transgresivos, indicando que las líneas

parentales poseen una marcada diferencia en cuanto a la senescencia en el periodo de postfloración. Para el PG, en los dos experimentos casi todos los genotipos fueron transgresivos hacia los valores inferiores dado que ambas líneas parentales poseen PG similar y elevado.

Al utilizar el dato promedio a través de los tres ambientes el número de genotipos transgresivos disminuyó (Figura 4). Excepto para los caracteres EA, ES, ASI, NHT, $fRFAI_{max}$, RGP y PG, para el resto de los caracteres la proporción de genotipos no transgresivos fue superior a la de transgresivos.

3.1.4. CORRELACIONES FENOTÍPICAS ENTRE CARACTERES

En las Tablas 15 a 17 se presentan los coeficientes de correlaciones fenotípicas entre los caracteres para los ensayos 1, 3 y a través de ambientes, respectivamente.

Tabla 15: Correlaciones fenotípicas entre los caracteres evaluados en el Exp1.

Carácter	EA	ES	ASI	AP	NHT	LE	ÁNG	IAF	LMH	AMH	PHV	PES	TSP1	TSP2	fRFAI _{max}	BIO	RGP	NGP	PG	IC
EA	1	0,80	-0,37	-0,18		-0,17	-0,17					0,36								
ES	***	1	0,25		0,21						0,18	0,39	-0,22							
ASI	***	**	1																	
AP	*	ns	ns	1	0,26	0,62		0,28	0,48					0,21	0,38	0,42				
NHT	ns	*	ns	**	1	-0,19		0,44					0,21	0,34	0,28	0,27				
LE	*	ns	ns	***	*	1			0,29				-0,26							
ÁNG	*	ns	ns	ns	ns	ns	1		-0,19											
IAF	ns	ns	ns	**	***	ns	ns	1	0,53	0,70	0,25	0,28		0,72	0,37	0,68	0,39	0,39		0,20
LMH	ns	ns	ns	***	ns	**	*	***	1	0,29	0,28	0,22		0,27	0,32	0,52	0,24	0,20		
AMH	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	***	**	1	0,17			0,53	0,23	0,56	0,24	0,24		
PHV	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	**	**	*	1	0,96	-0,80	-0,47	0,26	0,37	0,29	0,28	0,18	0,22
PES	***	***	ns	ns	ns	ns	ns	**	**	ns	***	1	-0,78	-0,43	0,25	0,35	0,28	0,27	0,20	0,22
TSP1	ns	*	ns	ns	*	**	ns	ns	ns	ns	***	***	1	0,57				-0,22	-0,19	
TSP2	ns	ns	ns	*	***	ns	ns	***	**	***	***	***	***	1	0,18	0,33				
fRFAI _{max}	ns	ns	ns	***	**	ns	ns	***	**	**	**	**	ns	*	1	0,43	0,18		0,21	
BIO	ns	ns	ns	***	**	ns	ns	***	***	***	***	***	ns	**	***	1	0,66	0,64	0,28	0,43
RGP	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	***	**	**	**	**	**	ns	*	***	1	0,96	0,42	0,93
NGP	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	***	*	**	**	**	*	ns	ns	***	***	1	0,24	0,90
PG	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	*	ns	ns	**	**	***	**	1	0,41
IC	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	**	*	**	ns	ns	***	***	***	***	1

* Probabilidad asociada $p < 0,05$; ** Probabilidad asociada $p < 0,01$; ***: probabilidad asociada $p < 0,0001$; ns: no significativo; a la derecha de la diagonal se muestran los valores de las correlaciones significativas.

Tabla 16: Correlaciones fenotípicas entre los caracteres evaluados en el Exp3.

Carácter	EA	ES	ASI	AP	NHT	LE	ÁNG	IAF	LMH	AMH	PHV	PES	TSP1	TSP2	fRFAI _{max}	BIO	RGP	NGP	PG	IC	
EA	1	0,73	-0,26		0,47	-0,27		0,49	0,32	0,20		0,19	0,31	0,40	0,31						-0,32
ES	***	1	0,45		0,28			0,39	0,37	0,17		0,21		0,28	0,22		-0,41	-0,43			-0,54
ASI	**	***	1		-0,24	0,18							-0,19			-0,22	-0,37	-0,40			-0,36
AP	ns	ns	ns	1	0,31	0,79		0,18	0,37	-0,22			0,18	0,20	0,28	0,24					
NHT	***	**	**	**	1	-0,17		0,51	0,26				0,54	0,45	0,33	0,26					
LE	**	ns	*	***	*	1			0,25	-0,23	-0,18	-0,26									
ÁNG	ns	ns	ns	ns	ns	ns	1										0,19	0,20			0,19
IAF	***	***	ns	*	***	ns	ns	1	0,68	0,64			0,26	0,78	0,39	0,53					
LMH	**	***	ns	***	**	**	ns	***	1	0,19				0,54	0,36	0,30				0,18	-0,23
AMH	*	*	ns	*	ns	**	ns	***	*	1				0,46		0,38		0,18			
PHV	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	1	0,96	-0,76	-0,61		0,23	0,23			0,32	0,18
PES	*	*	ns	ns	ns	**	ns	ns	ns	ns	***	1	-0,67	-0,49		0,26	0,18			0,29	
TSP1	**	ns	*	*	***	ns	ns	**	ns	ns	***	***	1	0,68	0,21					-0,21	-0,23
TSP2	***	**	ns	*	***	ns	ns	***	***	***	***	***	***	1	0,33	0,25					-0,18
fRFAI _{max}	**	**	**	**	**	ns	ns	***	***	ns	ns	ns	*	**	1						
BIO	ns	ns	*	**	**	ns	ns	***	**	***	**	**	ns	**	ns	1	0,67	0,51	0,42	0,32	
RGP	ns	***	***	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	**	*	ns	ns	ns	***	1	0,90	0,36	0,90	
NGP	ns	***	***	ns	ns	ns	*	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	***	***	1			0,88
PG	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	**	**	*	ns	ns	***	***	ns	1		0,22
IC	**	***	***	ns	ns	ns	*	ns	**	ns	*	ns	**	*	ns	**	***	***	***	*	1

* Probabilidad asociada $p < 0,05$; ** Probabilidad asociada $p < 0,01$; ***: probabilidad asociada $p < 0,0001$; ns: no significativo; a la derecha de la diagonal se muestran los valores de las correlaciones significativas.

Tabla 17: Correlaciones fenotípicas entre los caracteres evaluados a través de ambientes.

Carácter	EA	ES	ASI	AP	NHT	LE	ÁNG	IAF	LMH	AMH	PHV	PES	TSP1	TSP2	fRFAl _{max}	BIO	RGP	NGP	PG	IC
EA	1	0,78	-0,34		0,29			0,33				0,34		0,21	0,24					
ES	***	1	0,29		0,27			0,30	0,24		0,18	0,35			0,24			-0,17		-0,20
ASI	***	**	1			0,21											-0,18	-0,22		-0,18
AP	ns	ns	ns	1		0,83		0,51	0,64	0,20				0,48	0,59	0,58	0,37	0,35		0,24
NHT	**	**	ns	ns	1	-0,30		0,41					0,47	0,38						-0,19
LE	ns	ns	*	***	**	1		0,29	0,57	0,23			-0,20	0,33	0,45	0,45	0,39	0,38		0,32
ÁNG	ns	ns	ns	ns	ns	ns	1								0,25		0,16	0,17		0,18
IAF	***	**	ns	***	***	**	ns	1	0,66	0,69		0,19		0,84	0,56	0,76	0,46	0,42	0,17	0,21
LMH	ns	**	ns	***	ns	***	ns	***	1	0,36				0,55	0,60	0,58	0,37	0,33	0,17	0,22
AMH	ns	ns	ns	*	ns	**	ns	***	***	1				0,56	0,40	0,63	0,43	0,42		0,24
PHV	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	1	0,95	-0,75	-0,48		0,18			0,17	
PES	***	***	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	***	1	-0,73	-0,33	0,24	0,30	0,17		0,19	
TSP1	ns	ns	ns	ns	***	*	ns	ns	ns	ns	***	***	1	0,47						-0,17
TSP2	**	ns	ns	***	***	***	ns	***	***	***	***	***	***	1	0,46	0,56	0,37	0,38		0,18
fRFAl _{max}	**	**	ns	***	ns	***	**	***	***	***	ns	**	ns	***	1	0,57	0,37	0,36		0,24
BIO	ns	ns	ns	***	ns	***	ns	***	***	***	*	**	ns	***	***	1	0,79	0,72	0,26	0,54
RGP	ns	ns	*	***	ns	***	*	***	***	***	ns	*	ns	***	***	***	1	0,95	0,27	0,92
NGP	ns	*	**	***	ns	***	*	***	***	***	ns	ns	ns	***	***	***	***	1		0,90
PG	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	*	ns	*	*	ns	ns	ns	**	**	ns	1	0,22
IC	ns	*	*	**	*	**	*	**	**	**	ns	ns	*	*	**	***	***	***	**	1

* Probabilidad asociada $p < 0,05$; ** Probabilidad asociada $p < 0,01$; ***: probabilidad asociada $p < 0,0001$; ns: no significativo; a la derecha de la diagonal se muestran los valores de las correlaciones significativas.

Para el cálculo de las correlaciones fenotípicas no se empleó el dato de AFM. Solamente se incluyó el dato de IAF debido a que este surge de multiplicar el AFM por una constante (la densidad de siembra) y por lo tanto la correlación entre estos arrojaría un valor igual a 1.

En el Exp1, RGP correlacionó de manera positiva con sus componentes, NGP y PG y además con BIO, IC, PHV, PES, LMH, AMH, IAF, y con TSP1 lo hizo de manera negativa. De acuerdo a los valores de los coeficientes de correlación obtenidos, el NGP fue el componente que mayor importancia tuvo en la generación del rendimiento, con respecto al PG. Al considerar al RGP como el producto entre la BIO y el IC, este último rasgo es el que mayor relevancia tuvo sobre el rendimiento, aunque la correlación entre RGP y BIO también fue elevada. En cuanto a los caracteres asociados con la arquitectura de canopeo, el IAF fue el que presentó una mayor correlación con RGP. Esto indica que los genotipos que lograron un mayor crecimiento foliar presentaron un mayor RGP. Con respecto a los rasgos asociados a la senescencia, PHV tuvo la correlación más alta con RGP, aunque el valor no fue demasiado elevado, indicando que un retraso en la senescencia en postfloración tuvo un efecto positivo leve sobre el rendimiento.

Además los caracteres AP, NHT, IAF, LMH, AMH, PES, PHV y $fRFAI_{max}$ correlacionaron de manera positiva con BIO. De los caracteres asociados con la arquitectura de canopeo, el IAF fue el que mostró la mayor correlación positiva con BIO, remarcando la importancia de generar un alto IAF para lograr una gran producción de biomasa. Además, $fRFAI_{max}$ presentó una correlación importante con BIO indicando que los genotipos que interceptaron un mayor porcentaje de la radiación incidente tuvieron mayor producción de materia seca en madurez fisiológica. De los caracteres asociados con la senescencia, PHV fue el que mayor correlación mostró con BIO, sugiriendo que los genotipos con mayor persistencia foliar verde en postfloración tuvieron mayor crecimiento.

También se observó una correlación positiva de $fRFAI_{max}$ con PHV, PES, AMH, LMH, IAF, NHT y AP. De estos rasgos, AP (0,38) e IAF (0,37) son los que mayor correlación presentaron con $fRFAI_{max}$, indicando que los genotipos de mayor crecimiento interceptaron un mayor porcentaje de la radiación incidente. En un ambiente en el que las condiciones fueron adversas y las RILs no tuvieron un buen crecimiento, un aumento en la AP pudo haber llegado a tener más importancia en la interceptación que un aumento en el crecimiento foliar, de acuerdo a lo indicado por los valores de los coeficientes de correlación.

En el Exp3, RGP correlacionó positivamente con sus componente (NGP y PG) y con BIO, IC, PHV, ASI y ES (de manera negativa con estos dos últimos). Sin embargo, ninguno de los rasgos asociados a la arquitectura de canopeo mostró una correlación importante con el

rendimiento final. BIO correlacionó de manera positiva con PES, PHV, LMH, AMH, IAF, NHT y AP. En cuanto a $fRFAI_{max}$, mostró una correlación positiva con LMH, IAF, NHT, AP, ES y EA. La ausencia de correlación entre los caracteres asociados con la arquitectura y RGP, sugiere que un aumento en estos atributos generó una mayor producción de biomasa, pero esto no implicó una mayor partición de asimilados destinados a la producción de granos. Tampoco se observó una correlación significativa de $fRFAI_{max}$ con BIO ni con RGP. Esto estaría indicando que la eficiencia en el uso de la radiación de las RILs en este experimento fue baja.

Con el dato promedio de los tres ambientes, se observó una correlación positiva significativa de RGP con AP, LE, IAF, LMH, AMH TSP2, $fRFAI_{max}$, BIO y sus componentes. En cuanto a BIO correlacionó de manera significativa con AP, LE, IAF, LMH, AMH, PES, TSP2 y $fRFAI_{max}$. Este último por su parte correlacionó significativamente con AP, LE, ÁNG, IAF, LMH y AMH.

En general, aquellos genotipos que tuvieron un mayor crecimiento foliar interceptaron un mayor porcentaje de la radiación incidente, pudiendo fijar un mayor número de granos con un mayor peso de los mismos y cuanto mayor fue el tamaño del área foliar, el número de hojas, la altura de las plantas y la persistencia foliar verde en postfloración, mayor fue la intercepción de la radiación incidente y el crecimiento de las RILs.

PG correlacionó de manera positiva con PHV, PES y $fRFAI_{max}$, demostrando que los genotipos que tuvieron mayor intercepción de la radiación incidente y mayor persistencia foliar verde en postfloración generaron granos de mayor peso.

IAF correlacionó de manera positiva con sus componentes (LMH y AMH), con NHT y AP, sugiriendo que los genotipos con mayor altura y número de hojas generaron un mayor índice de área foliar. Además, LE tuvo una correlación positiva con AP y negativa con NHT, por lo tanto en los genotipos con mayor número de hojas la distancia entre los estratos foliares fue menor.

En cuanto a los caracteres asociados a floración, ASI mostró una correlación negativa con EA y positiva con ES. Por lo tanto, los genotipos que tardaron más en llegar a floración femenina y menos a floración masculina tuvieron una mayor asincronía floral.

3.1.5. VARIABILIDAD GENOTÍPICA Y HEREDABILIDAD DE LOS CARACTERES

En la Tabla 18 se muestran los resultados correspondientes a la determinación de la variabilidad a nivel de genotipos y el efecto de cada una de las fuentes de variación sobre los caracteres.

Tabla 18: Análisis de la variabilidad genotípica existente para cada carácter evaluado a través de ambientes para una población de RILs y sus progenitores.

Carácter	R ²	CV	Fuente de variación	CM	Valor F	Valor p
EA	0,79	2,91	Genotipo	18,32	5,34	<0,0001
			Genotipo x ambiente	5,65	1,65	0,0005
			Error residual	3,43		
ES	0,79	2,91	Genotipo	18,40	5,10	<0,0001
			Genotipo x ambiente	5,14	1,43	0,0096
			Error residual	3,61		
ASI	0,76	81,5	Genotipo	7,43	3,99	<0,0001
			Genotipo x ambiente	3,22	1,73	0,0001
			Error residual	1,86		
AP	0,97	7,16	Genotipo	796,60	11,00	<0,0001
			Genotipo x ambiente	167,85	2,32	<0,0001
			Error residual	72,44		
NHT	0,94	3,14	Genotipo	5,42	14,56	<0,0001
			Genotipo x ambiente	0,70	1,89	<0,0001
			Error residual	0,37		
LE	0,96	8,39	Genotipo	5,63	7,99	<0,0001
			Genotipo x ambiente	1,46	2,07	<0,0001
			Error residual	0,70		
ÁNG	0,94	10,45	Genotipo	169,78	20,18	<0,0001
			Genotipo x ambiente	20,18	2,40	<0,0001
			Error residual	8,41		
IAF	0,93	10,26	Genotipo	1,12	10,60	<0,0001
			Genotipo x ambiente	0,18	1,74	<0,0001
			Error residual	0,10		
LMH	0,94	5,44	Genotipo	81,65	6,97	<0,0001
			Genotipo x ambiente	16,98	1,45	0,0015
			Error residual	11,72		

R²: coeficiente de determinación; CV: coeficiente de variación; CM: cuadrado medio; EA: periodo emergencia-antesis; ES: periodo emergencia-silking; ASI: intervalo antesis-silking; AP: altura de planta; NHT: número de hojas totales; LE: longitud promedio de los entrenudos; ÁNG: ángulo vertical de inserción foliar en el tallo; IAF: índice de área foliar; LMH: longitud máxima de la hoja.

Continuación Tabla 18.

Carácter	R ²	CV	Fuente de variación	CM	Valor F	Valor p
AMH	0,91	6,66	Genotipo	1,96	7,68	<0,0001
			Genotipo x ambiente	0,37	1,47	0,0011
			Error residual	0,25		
PHV	0,86	9,84	Genotipo	201,97	4,84	<0,0001
			Genotipo x ambiente	56,61	1,36	0,0073
			Error residual	41,70		
PES	0,86	4,81	Genotipo	233,58	5,85	<0,0001
			Genotipo x ambiente	55,05	1,38	0,0051
			Error residual	39,92		
TSP1	0,81	14,27	Genotipo	0,0029	4,14	<0,0001
			Genotipo x ambiente	0,00104	1,47	0,0011
			Error residual	0,00071		
TSP2	0,93	13,92	Genotipo	501,32	8,32	<0,0001
			Genotipo x ambiente	130,39	2,16	<0,0001
			Error residual	60,24		
fRFAI _{max}	0,91	17,39	Genotipo	0,025	2,60	<0,0001
			Genotipo x ambiente	0,0094	0,98	0,5560
			Error residual	0,0096		
BIO	0,90	16,28	Genotipo	1363,26	4,46	<0,0001
			Genotipo x ambiente	528,21	1,73	<0,0001
			Error residual	305,57		
RGP	0,90	34,58	Genotipo	553,82	5,25	<0,0001
			Genotipo x ambiente	242,92	2,30	<0,0001
			Error residual	105,55		
NGP	0,90	33,75	Genotipo	13504,10	5,01	<0,0001
			Genotipo x ambiente	5884,90	2,18	<0,0001
			Error residual	2697,17		
PG	0,83	12,44	Genotipo	2757,29	4,84	<0,0001
			Genotipo x ambiente	806,89	1,42	0,0030
			Error residual	570,12		
IC	0,86	32,74	Genotipo	0,026	4,17	<0,0001
			Genotipo x ambiente	0,0109	1,75	<0,0001
			Error residual	0,0062		

R²: coeficiente de determinación; CV: coeficiente de variación; CM: cuadrado medio; AMH: ancho máximo de la hoja; PHV: persistencia de las hojas verdes en postfloración; PES: periodo emergencia-senescencia; TSP1: tasa promedio de senescencia en postfloración; TSP2: tasa promedio de senescencia en postfloración; fRFAI_{max}: fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada; BIO: biomasa aérea en madurez fisiológica; RGP: rendimiento en granos por planta; NGP: número de granos por planta; PG: peso del grano; IC: índice de cosecha.

Existió variabilidad genotípica significativa ($p < 0,0001$) para todos los caracteres evaluados en la población de RILs. Además, el efecto de la interacción genotipo x ambiente fue significativo ($p < 0,01$) para todos los caracteres, excepto para $fRFAI_{max}$. Esto indica que los genotipos se comportaron de igual manera en cuanto a su capacidad de interceptar la radiación incidente en uno u otro ambiente.

En la Tabla 19 se muestran los valores de varianza genotípica aditiva, varianza de la interacción aditivo x ambiente, varianza del error experimental, varianza fenotípica y heredabilidad en sentido estricto para cada uno de los caracteres.

Tabla 19: Estimaciones de los componentes de varianza y heredabilidad de cada carácter.

Carácter	σ^2_A	σ^2_{AxE}	$\sigma^2_A / \sigma^2_{AxE}$	σ^2_e	σ^2_A / σ^2_e	σ^2_F	h^2
EA	3,61	1,18	3,05	3,44	1,04	5,38	0,66 (0,057)
ES	3,81	0,74	5,14	3,66	1,04	5,38	0,70 (0,051)
ASI	1,19	0,70	1,70	1,86	0,63	2,18	0,54 (0,077)
AP	154,14	58,12	2,65	72,59	2,12	197,66	0,77 (0,031)
NHT	1,12	0,18	6,22	0,38	2,94	1,29	0,86 (0,020)
LE	1,07	0,49	2,18	0,67	1,59	1,45	0,73 (0,037)
ÁNG	37,07	7,45	4,97	8,13	4,55	42,34	0,87 (0,017)
IAF	0,22	0,04	5,50	0,11	2,00	0,26	0,82 (0,024)
LMH	16,39	3,91	4,19	11,25	1,45	20,43	0,78 (0,031)
AMH	0,39	0,075	5,20	0,25	1,56	0,48	0,80 (0,028)
PHV	36,82	12,41	2,96	40,56	0,91	52,48	0,70 (0,046)
PES	46,75	12,31	3,79	39,01	1,19	61,98	0,75 (0,039)
TSP1	0,00043	0,00024	1,79	0,00072	0,59	0,00071	0,60 (0,064)
TSP2	88,51	40,22	2,20	63,62	1,39	122,02	0,72 (0,039)
$fRFAI_{max}$	0,0035	0,000	-	0,0095	0,36	0,0059	0,58 (0,052)
BIO	200,75	120,41	1,66	319,82	0,62	335,23	0,60 (0,056)
RGP	71,94	76,36	0,94	112,41	0,63	133,52	0,53 (0,063)
NGP	1790,83	1814,98	0,98	2824,37	0,63	3293,64	0,54 (0,063)
PG	478,98	158,35	3,02	566,57	0,84	691,26	0,69 (0,044)
IC	0,0036	0,0029	1,24	0,0062	0,58	0,0064	0,56 (0,061)

σ^2_A : varianza genotípica aditiva; σ^2_{AxE} : varianza de la interacción aditivo x ambiente; $\sigma^2_A / \sigma^2_{AxE}$: relación entre la varianza aditiva y la varianza de la interacción aditivo x ambiente; σ^2_e : varianza del error; σ^2_A / σ^2_e : relación entre la varianza aditiva y la varianza del error; σ^2_F : varianza fenotípica; h^2 : heredabilidad en sentido estricto a través de medias de familias endocriadas; entre paréntesis se muestra el error estándar de la heredabilidad.

Para todos los caracteres excepto RGP y NGP la varianza de la interacción aditivo x ambiente fue menor que la varianza aditiva. En el caso de $fRFAI_{max}$, la σ^2_{AxE} fue igual a cero dado que el efecto de la interacción GxE no fue significativo. La varianza del error fue mayor que la varianza aditiva para los caracteres ASI, PHV, TSP1, BIO, RGP, NGP, PG e IC, dando como resultado valores menores de heredabilidad en estos caracteres con respecto a los rasgos en los cuales la varianza aditiva fue mayor que la varianza del error. Se obtuvieron valores de h^2 que variaron desde 0,53 para RGP hasta 0,87 para ÁNG. En general se obtuvieron valores elevados de heredabilidad, mayores a 0,5 para todos los rasgos. Para los caracteres NHT, IAF, AMH, ES, ÁNG y LMH la relación $\sigma^2_A / \sigma^2_{AxE}$ fue la mayor, es decir que la σ^2_{AxE} fue proporcionalmente mucho menor que la σ^2_A y la respuesta al ambiente de estos caracteres fue relativamente baja en comparación con los demás.

3.1.6. CORRELACIONES GENOTÍPICAS ENTRE CARACTERES

En la Tabla 20 se muestran las correlaciones genotípicas obtenidas para cada par de caracteres.

Tabla 20: Valores de correlaciones genotípicas obtenidas entre los caracteres evaluados a través de ambientes.

Carácter	EA	ES	ASI	AP	NHT	LE	ÁNG	IAF	LMH	AMH	PHV	PES	TSP1	TSP2	fRFAI	BIO	RGP	NGP	PG	IC
EA	1	0,82	-0,29	-0,46	0,39	-0,34	-0,23	0,50	0,24	0,22	0,34	0,63	-0,09	-0,15	0,29	-0,24	-0,48	nd	-0,32	-0,19
ES		1	0,30	-0,31	0,33	-0,14	-0,17	0,38	0,32	0,09	0,38	0,63	-0,16	-0,22	0,47	-0,34	-0,67	nd	-0,28	-0,41
ASI			1	-0,26	-0,07	0,48	0,09	-0,14	0,10	-0,13	0,19	0,17	-0,23	-0,86	0,03	-0,87	nd	nd	-0,45	-0,27
AP				1	0,32	0,79	0,10	0,26	0,41	-0,20	0,02	0,01	nd	0,26	nd	0,30	0,06	-0,06	0,26	0,84
NHT					1	-0,23	0,04	0,64	0,19	0,03	0,11	0,18	0,62	0,61	0,60	0,15	0,10	-0,01	0,24	-0,01
LE						1	0,03	-0,07	0,29	-0,18	0,18	0,28	-0,09	0,02	0,07	-0,13	0,01	-0,21	0,22	0,004
ÁNG							1	-0,006	-0,16	0,04	0,17	0,11	0,49	-0,04	-0,06	0,17	0,24	0,26	0,03	0,26
IAF								1	0,58	0,58	0,18	0,28	0,19	0,82	0,55	0,57	0,37	0,17	0,36	0,001
LMH									1	0,14	0,16	0,21	-0,47	0,45	0,26	0,41	0,15	0,004	0,32	-0,37
AMH										1	0,23	0,24	-0,14	0,41	0,28	0,42	0,28	0,16	0,19	0,001
PHV											1	0,97	-0,78	-0,44	nd	0,38	0,24	0,13	0,18	0,49
PES												1	-0,73	-0,34	nd	0,39	0,19	0,09	0,18	0,26
TSP1													1	0,60	-0,08	nd	nd	nd	nd	-0,19
TSP2														1	-0,18	0,37	0,15	0,13	0,08	-0,15
fRFAI															1	nd	-0,07	nd	0,89	0,15
BIO																1	0,65	0,50	0,36	0,31
RGP																	1	0,91	0,33	0,92
NGP																		1	-0,16	0,88
PG																			1	0,26
IC																				1

A la derecha de la diagonal se presentan las correlaciones genotípicas; nd: no determinada; en negrita se destacan las correlaciones mayores a 0,4.

Los caracteres que presentaron las mayores estimaciones de la correlación genotípica con RGP fueron BIO, NGP, IC, EA y ES. En el caso de estos últimos dos rasgos, la correlación fue negativa (-0,67 con ES y -0,48 con EA), indicando que los genotipos más precoces poseen mayor rendimiento. De los atributos asociados a la arquitectura de canopeo, el IAF y el AMH son los que mostraron la mayor correlación con el RGP, mientras que la PHV fue el que presentó mayor correlación, de los rasgos asociados a senescencia. Además, los caracteres PHV, AP y ES mostraron una correlación genotípica alta con IC (0,49, 0,84 y -0,41 respectivamente). Por lo tanto, una mayor altura de planta, persistencia foliar verde en postfloración y un menor periodo a floración femenina, tiene efecto positivo sobre la proporción de BIO destinada a la producción de granos por parte de las RILs. Con respecto a BIO, presentó una correlación alta con IAF (0,57) y ASI (-0,87) indicando que un mayor tamaño del área foliar de las RILs y una menor asincronía floral tiene un efecto positivo sobre la producción de materia seca en madurez fisiológica. $fRFAI_{max}$ presentó una correlación elevada con NHT (0,60), IAF (0,55) y PG (0,89). Esto sugiere que los genotipos con mayor NHT e IAF interceptan un mayor porcentaje de la radiación incidente y generan granos de mayor peso.

En cuanto al resto de los caracteres, TSP2 tuvo una correlación positiva con TSP1, IAF y NHT indicando que los genotipos con mayor índice de area foliar en floración y hojas totales poseen una tasa promedio de senescencia mayor en el periodo de postfloración. Además este carácter presentó una correlación negativa con PHV (-0,48) y ASI (-0,86). Es decir que cuanto menor es la asincronía floral y la persistencia de las hojas verdes en postfloración, mayor es la tasa promedio de senescencia.

PES mostró una correlación positiva alta con PHV (0,97), EA (0,63) y ES (0,63), lo cual es esperable dado que cuanto mayor sea la persistencia foliar verde en postfloración y el tiempo para alcanzar la floración, mayor será el ciclo de vida.

En cuanto a IAF, mostró una correlación genotípica positiva con sus componentes (LMH y AMH), con NHT y EA, indicando que los genotipos que retrasan su llegada a floración masculina generan un mayor índice de area foliar en dicho estadio. Además LE presentó una correlación positiva con AP (0,79), tal como era de esperar debido a la alta asociación entre estos dos caracteres. En cuanto a los días a floración, EA y ES tuvieron una correlación positiva alta entre sí (0,82).

3.1.7. ANÁLISIS DE SENDERO

En la Tabla 21 se muestra el análisis de efectos directos e indirectos de los caracteres asociados a la captura de luz respecto al RGP.

Tabla 21: Coeficientes de sendero con efectos directos e indirectos de los caracteres asociados a la captura de luz sobre el RGP.

Carácter	AP	NHT	LE	ÁNG	IAF	LMH	AMH	r total
AP	0,08		0,10		0,25	-0,05		0,37
NHT		-0,25			0,20			-0,07
LE	0,07	0,07	0,12		0,15			0,39
ÁNG				0,14				0,16
IAF		-0,10			0,50			0,46
LMH	0,05		0,07		0,33	-0,08		0,37
AMH					0,34		0,05	0,43

Los números en negrita en la diagonal corresponden a los efectos directos; se muestran los efectos indirectos más importantes; r total: correlación total; AP: altura de planta; NHT: número de hojas totales; LE; longitud promedio de los entrenudos; ÁNG: ángulo vertical de inserción foliar; IAF: índice de área foliar máximo en floración; LMH; longitud máxima de la hoja; AMH: ancho máximo de la hoja.

El mayor efecto directo se obtuvo con IAF, con un coeficiente de 0,50 seguido por NHT con un efecto directo de -0,25. La menor contribución directa se obtuvo con AMH y LMH. En cuanto a los efectos indirectos, el rasgo que más efectos indirectos presentó fue el IAF. Todos los caracteres, excepto ÁNG, mostraron un efecto indirecto a través de este atributo. En el caso de NHT, su correlación (r) total fue cercana a cero porque su efecto directo es negativo, pero su efecto indirecto via IAF es positivo y de magnitud similar.

En la Tabla 22 se muestran los coeficientes de sendero de los caracteres asociados a floración respecto al RGP.

Tabla 22: Coeficientes de sendero con efectos directos e indirectos de los caracteres asociados a floración sobre el RGP.

Carácter	EA	ES	ASI	r total
EA	-0,67	0,45	0,20	-0,02
ES	-0,53	0,57	-0,17	-0,12
ASI	0,23	0,17	-0,58	-0,18

Los números en negrita en la diagonal corresponden a los efectos directos; fuera de la diagonal se muestran los efectos indirectos; r total: correlación total; EA: periodo emergencia-antesis; ES: periodo emergencia-silking; ASI: intervalo antesis-silking.

Los tres caracteres asociados a floración presentaron efectos directos elevados sobre el RGP. El mayor efecto se obtuvo con EA con un coeficiente (r) de -0,67, seguido por ASI y luego por ES. Sin embargo, en el caso de EA la correlación total es cercana a cero dado que tuvo un efecto indirecto positivo a través de ES y ASI. En el caso de ES, ocurrió algo similar porque tuvo un efecto directo positivo elevado, pero presentó efectos indirectos via EA y ASI. En el caso de ASI, el efecto total fue levemente negativo, debido a que presentó un efecto directo negativo y un efecto indirecto via EA y AS positivo. En la Tabla 23 se muestran los efectos directos e indirectos de los caracteres asociados a la senescencia en postfloración respecto al RGP.

Tabla 23: Coeficientes de sendero con efectos directos e indirectos de los caracteres asociados a la senescencia en postfloración sobre el RGP.

Carácter	PHV	PES	TSP1	TSP2	r total
PHV	-0,27	0,33	0,26	-0,25	0,07
PES	-0,26	0,35	0,25	-0,17	0,17
TSP1	0,20	-0,25	-0,35	0,24	-0,15
TSP2	0,13	-0,12	-0,16	0,52	0,37

Los números en negrita en la diagonal corresponden a los efectos directos; fuera de la diagonal se muestran los efectos indirectos; r total: correlación total; PHV: persistencia de hojas verdes en postfloración; PES: periodo emergencia-senescencia; TSP1: tasa promedio de senescencia en postfloración (h.día⁻¹); TSP2: tasa promedio de senescencia en postfloración (cm².día⁻¹).

El mayor efecto directo fue obtenido con la TSP2 con un coeficiente de 0,52 seguido por PES y TSP1 con coeficientes de 0,35 y -0,35 respectivamente. En caso de TSP2 el efecto total fue menor que el efecto directo debido a que presentó un efecto indirecto negativo via la TSP1. Con respecto a PHV, la correlación total fue cercana a cero porque tuvo un efecto indirecto positivo via PES y TSP1 y un efecto indirecto negativo via TSP2. En cuanto a PES, mostró un efecto indirecto positivo via TSP1 y un efecto indirecto negativo via PHV y TSP2. TSP1 tuvo un efecto

directo negativo y un efecto indirecto positivo via PHV y TSP2, dando como resultado una leve correlación negativa. En la Tabla 24 se muestran los efectos directos e indirectos sobre el RGP de todos los caracteres evaluados que mostraron una correlación fenotípica significativa con este.

Tabla 24: Coeficientes de sendero con efectos directos e indirectos de los caracteres que presentaron una correlación fenotípica significativa con el RGP a través de ambientes.

Carácter	ASI	AP	LE	ÁNG	IAF	LMH	AMH	PES	TSP2	r total
ASI	-0,23		0,08							-0,18
AP		-0,11	0,33		0,12					0,37
LE		-0,10	0,40		0,07					0,39
ÁNG				0,16						0,16
IAF			0,12		0,23		0,11			0,46
LMH			0,23		0,15	0,03				0,37
AMH			0,09		0,16		0,16			0,43
PES								0,11		0,17
TSP2			0,13		0,19		0,09		0,001	0,37

Los números en negrita en la diagonal corresponden a los efectos directos; se muestran los efectos indirectos más importantes; r total: correlación total; ASI: intervalo anthesis-silking; AP: altura de planta; LE: longitud promedio de entrenudos; ÁNG: ángulo vertical de inserción foliar; IAF: índice de área foliar máximo; LMH: longitud máxima de la hoja; AMH: ancho máximo de la hoja; PES: periodo emergencia-senescencia; TSP2: tasa promedio de senescencia en postfloración (cm².día⁻¹).

El carácter que mayor efecto directo presentó fue LE con un coeficiente de 0,40, seguido por ASI e IAF con coeficientes iguales a -0,23 y 0,23 respectivamente. Los menores efectos directos fueron arrojados por TSP2 y LMH. En cuanto a los efectos indirectos, AP tuvo un efecto indirecto via LE de 0,33, LMH tuvo un efecto indirecto via LE e IAF. AMH presentó un efecto indirecto via IAF, y TSP2 tuvo un efecto indirecto via IAF, LE y AMH.

3.1.8. PREDICCIÓN DE LA RESPUESTA CORRELACIONADA EN RENDIMIENTO

En la Tabla 25 se presentan los valores correspondientes a la predicción de la respuesta por selección directa por RGP y las predicciones de las respuestas correlacionadas.

Tabla 25: Predicción de la respuesta correlacionada y la respuesta por selección directa del rendimiento.

R_{RGP}	RC_{RGP}		RC_{RGP}/R_{RGP}
6,10 i_{RGP}	RC_{RGP-EA}	-3,29 i_{EA}	-0.53
	RC_{RGP-ES}	-4,62 i_{ES}	-0.75
	$RC_{RGP-IAF}$	2,82 i_{IAF}	0,46
	$RC_{RGP-BIO}$	4,24 i_{BIO}	0,69
	$RC_{RGP-NGP}$	5,63 i_{NGP}	0,92
	RC_{RGP-IC}	5,77 i_{IC}	0,94

R_{RGP} : predicción de la respuesta por selección directa en RGP; RC_{RGP} : predicción de la respuesta correlacionada en RGP a través de la selección por otro carácter; RC_{RGP-EA} : predicción de la respuesta correlacionada a través de la selección por EA; RC_{RGP-ES} : predicción de la respuesta correlacionada a través de la selección por ES; $RC_{RGP-IAF}$: predicción de la respuesta correlacionada a través de la selección por IAF; $RC_{RGP-BIO}$: predicción de la respuesta correlacionada a través de la selección por BIO; $RC_{RGP-NGP}$: predicción de la respuesta correlacionada a través de la selección por NGP; RC_{RGP-IC} : predicción de la respuesta correlacionada a través de la selección por IC. i_x : intensidad de selección aplicada al carácter x.

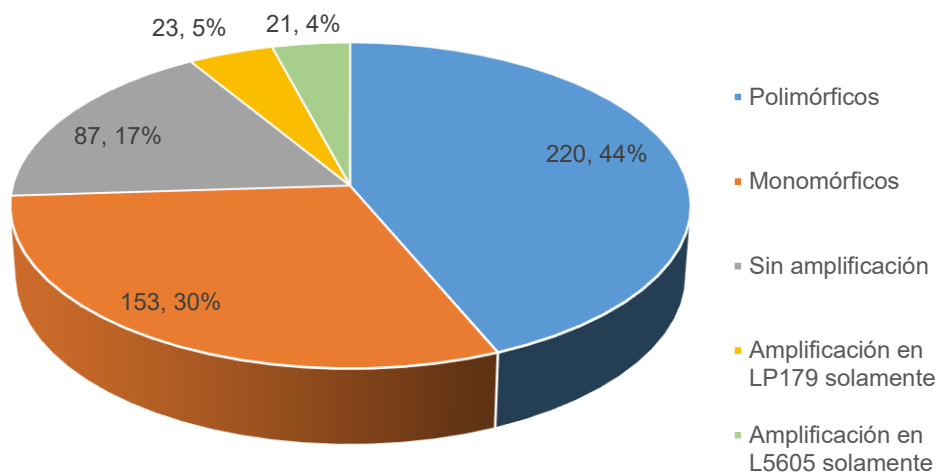
Se seleccionaron los caracteres EA, ES, IAF, BIO, NGP e IC debido a que son los que mayores valores estimados de las correlaciones genotípicas presentaron con el RGP. De acuerdo a los valores de las predicciones obtenidos, no es conveniente emplear ninguno de los atributos evaluados como caracteres primarios para efectuar una selección indirecta, debido a que la predicción de la respuesta correlacionada en rendimiento a partir de la selección de los caracteres mencionados, es menor que la predicción de la respuesta por selección directa en rendimiento.

3.2. CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA

3.2.1. PRUEBA DE POLIMORFISMOS EN LAS LÍNEAS PARENTALES

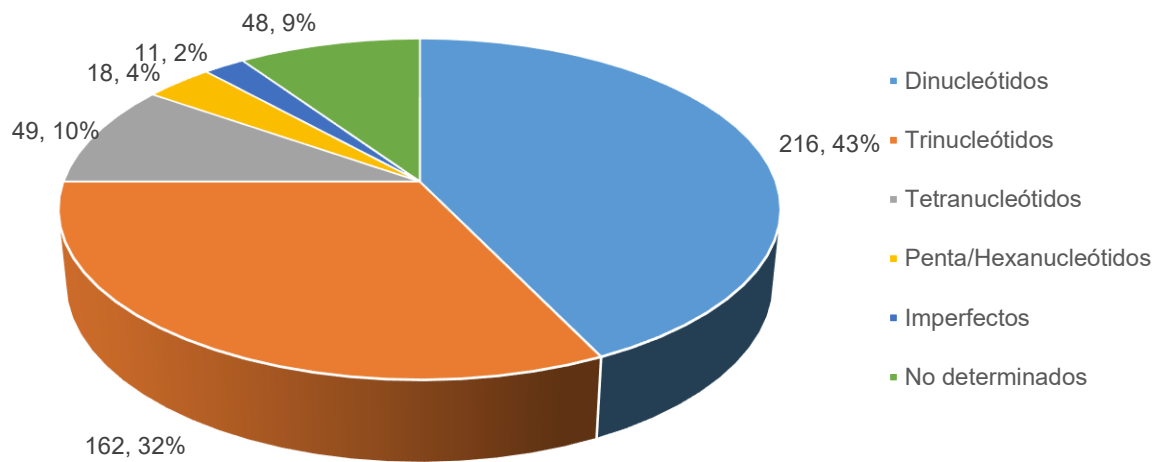
Se analizaron 504 marcadores moleculares SSR, de los cuales 220 resultaron polimórficos, 153 no mostraron variabilidad, 87 no arrojaron producto de amplificación en ninguna de las líneas, 23 amplificaron solamente en la línea parental LP179 y 21 solamente en la línea L5605. En la Figura 5 se muestra la proporción de marcadores según el producto de amplificación que arrojaron.

Figura 5: Cantidad de marcadores polimórficos, monomórficos y sin amplificación.



Teniendo en cuenta solamente los marcadores que arrojaron producto de amplificación en ambas líneas, el 59% de los mismos fueron polimórficos mientras que el 41% no presentaron variabilidad. A su vez, los marcadores moleculares probados en las líneas parentales fueron clasificados en base al tipo de repetición por el que estaban compuestos. En la Figura 6 se muestran la proporción de marcadores para cada tipo de repetición.

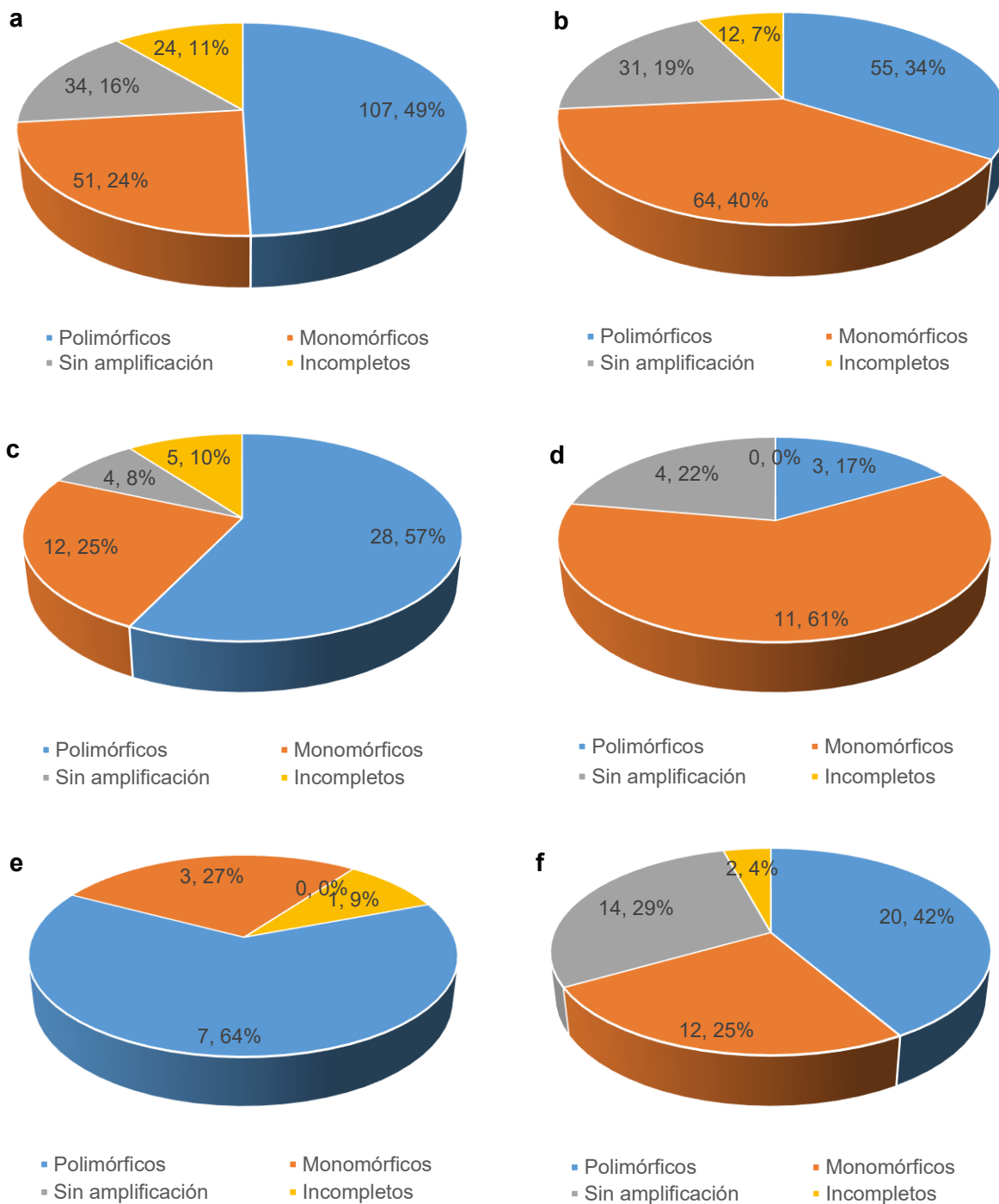
Figura 6: Tipo de repetición y porcentaje de cada una para los marcadores analizados.



El mayor porcentaje de marcadores analizados correspondió a los que poseen una repetición compuesta por dos nucleótidos, los cuales son los más simples y abundantes en el genoma de maíz. El menor porcentaje estuvo constituido por los penta/hexanucleótidos, que poseen el tipo de repetición más larga. Un 32% de los marcadores fueron del tipo trinucleótidos, un 10% tetranucleótidos, un 2% poseían un tipo de repetición imperfecta y a un 9% de los marcadores no se pudo determinar el tipo de repetición por el que estaban compuestos.

A su vez, para cada tipo de repetición se determinó el porcentaje de marcadores polimórficos, monomórficos, sin amplificación y con amplificación incompleta, es decir que amplificaron en una de las líneas parentales solamente. En la Figura 7 se muestra para cada tipo de repetición, el porcentaje de marcadores de cada tipo.

Figura 7: Cantidad de marcadores polimórficos, monomórficos y sin amplificación para cada tipo de repetición.



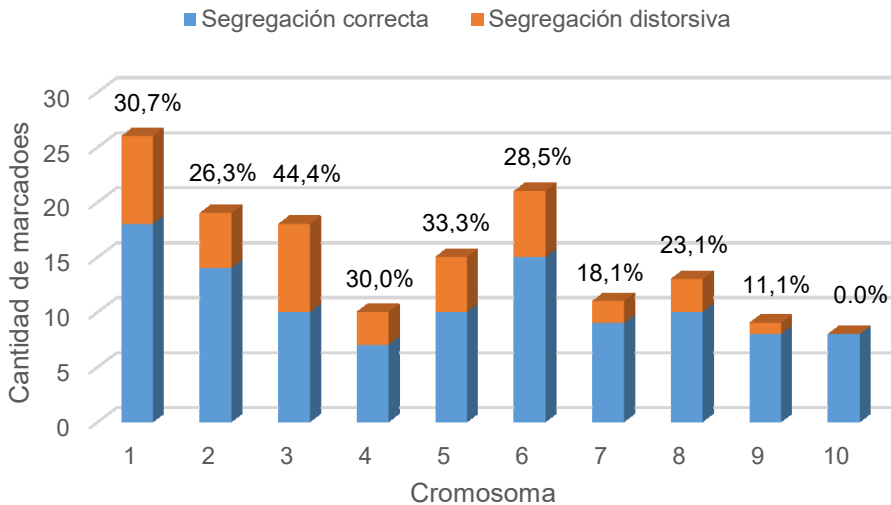
a: SSR dinucleótidos; **b:** SSR trinucleótidos; **c:** SSR tetranucleótidos; **d:** SSR penta/hexanucleótidos; **e:** SSR imperfectos; **f:** SSR con repetición no determinada. Incompletos: SSR que amplificaron en una de las líneas parentales solamente.

Los marcadores con tipo de repetición di, tetranucleótidos, imperfectos y no determinados fueron en su mayoría polimórficos, con respecto a los monomórficos y sin amplificación. En el caso de los tri y penta/hexanucleótidos, fueron en su mayoría monomórficos con respecto a los polimórficos. El mayor porcentaje de marcadores que no arrojaron productos de amplificación fue para los no determinados mientras que el menor porcentaje fue el de los dinucleótidos.

3.2.2. GENOTIPADO DE LA POBLACIÓN DE RILs

Se amplificaron 150 marcadores de los 220 que previamente habían resultado polimórficos entre las líneas parentales, en la población de mapeo. No se amplificaron todos los marcadores polimórficos obtenidos debido a que muchos correspondían a un mismo bin o region genómica, y por lo tanto se optó por mapear marcadores de diferentes regiones genómicas, en su mayoría. De los 150 marcadores, 109 mostraron una segregación correcta de acuerdo a las frecuencias alélicas esperadas para una población de RILs y 41 tuvieron una segregación distorsiva. En la Figura 8 se muestra el número de marcadores con segregación distorsiva para cada uno de los cromosomas. De los 109 marcadores con segregación adecuada, 6 no fueron utilizados para la construcción del mapa debido a que no presentaron ligamiento con ninguno de los restantes marcadores. Por lo tanto, se emplearon 103 marcadores SSR para la construcción del mismo. En el anexo IV, Tabla 43, se muestra la lista de marcadores que fueron empleados para la construcción del mapa de ligamiento, con sus respectivas ubicaciones cromosómicas, tipo de repetición por la que están compuestos y la secuencia de los oligonucleótidos empleados para su amplificación.

Figura 8: Proporción de marcadores con segregación distorsiva en cada cromosoma.



La mayor proporción de marcadores con segregación distorsiva se observó en el cromosoma 3 (44,4%) y en los cromosomas 1, 4 y 5. El menor porcentaje se observó en el cromosoma 9 (11,1%) y en el cromosoma 10 no se amplificaron marcadores que mostraran una segregación distorsiva. En el cromosoma 3 se observaron marcadores distorsivos en los bins el 3.02, 3.04, 3.05 y 3.06. En el cromosoma 5, en los bins 5.04, 5.05 y 5.06. En el cromosoma 1, en los bins 1.00, 1.02, 1.03, 1.05, 1.07 y 1.09 y en el cromosoma 4, se observaron en los bins 4.05, 4.06 y 4.11. En la Tabla 26 se muestra, para cada uno de los 103 marcadores SSR empleados para la construcción del mapa de ligamiento, el número de individuos que amplificó el alelo de una u otra línea parental y el test de chi-cuadrado para determinar la segregación.

Tabla 26: Segregación de los marcadores en la población de RILs y prueba de chi-cuadrado.

Cromosoma	Marcador	LP179	L5605	Heterocigotas	Datos perdidos	χ^2	<i>p</i> (%)
1	<i>phi097</i>	59	86	5	0	5,02	2,49
	<i>umc1363</i>	61	89	0	0	5,22	2,22
	<i>umc2225</i>	71	73	4	2	0,02	86,76
	<i>phi109275</i>	83	53	10	4	6,61	1,01
	<i>bnlg1866</i>	86	55	7	2	6,81	0,903
	<i>umc2390</i>	79	65	5	1	1,36	24,33
	<i>bnlg2086</i>	78	65	7	0	1,18	27,69
	<i>umc2233</i>	78	62	9	1	1,82	17,62
	<i>umc1812</i>	79	69	1	1	0,67	41,11
	<i>bnlg2057</i>	74	72	1	3	0,027	86,85
	<i>bnlg615</i>	69	67	1	13	0,029	86,38
	<i>umc1706</i>	68	73	9	0	0,17	67,37
	<i>phi002</i>	59	89	1	1	6,08	1,36
	<i>mmc0041</i>	59	91	0	0	6,82	0,89
	<i>bnlg1671</i>	66	79	5	0	1,16	28,03
	<i>phi064</i>	69	70	9	2	0,007	93,24
	<i>phi120</i>	72	71	7	0	0,007	93,33
	<i>umc1797</i>	67	73	7	3	0,25	61,21
2	<i>umc2245</i>	62	83	1	4	3,04	8,11
	<i>bnlg1302</i>	73	74	2	1	0,007	93,42
	<i>bnlg1297</i>	80	61	8	1	2,56	10,95
	<i>bnlg1017</i>	74	69	6	1	0,17	67,58
	<i>bnlg1064</i>	71	63	11	5	0,47	48,95
	<i>umc1541</i>	61	79	9	1	2,31	12,81
	<i>bnlg1018</i>	56	82	8	4	4,89	2,68
	<i>bnlg1909</i>	69	71	3	7	0,029	86,57
	<i>nc003</i>	63	80	5	2	2,02	15,51
	<i>umc1028</i>	65	72	4	9	0,35	54,98
	<i>umc1749</i>	70	74	5	1	0,11	73,88
	<i>bnlg1045</i>	67	77	3	3	0,69	40,46
	<i>bnlg1169</i>	65	76	7	2	0,85	35,42

LP179: cantidad de individuos que amplificaron el alelo de la línea LP179; L5605: cantidad de individuos que amplificaron el alelo de la línea L5605; Heterocigotas: cantidad de individuos que amplificaron los alelos de ambas líneas parentales; Datos perdidos: cantidad de individuos que no amplificaron ningún alelo o amplificaron un alelo raro; χ^2 : valor de la prueba de chi-cuadrado. *p*: valor de probabilidad asociada como porcentaje, del test estadístico; Criterio: FDR con un nivel de significancia del 5%. Valor crítico: 0%.

Continuación Tabla 26.

Cromosoma	Marcador	LP179	L5605	Heterocigotas	Datos perdidos	χ^2	<i>p</i> (%)
3	<i>umc2103</i>	69	71	8	2	0,029	86,57
	<i>umc2255</i>	71	68	7	4	0,065	79,91
	<i>bnlg1325</i>	59	78	8	5	2,63	10,45
	<i>bnlg602</i>	60	82	5	3	3,41	6,48
	<i>bnlg1601</i>	60	84	1	5	4,00	4,55
	<i>umc1400</i>	62	84	2	2	3,31	6,86
	<i>umc1266</i>	51	91	6	2	11,26	0,078
	<i>umc2381</i>	57	86	5	2	5,88	1,53
	<i>bnlg1108</i>	73	71	4	2	0,028	86,76
	<i>bnlg1754</i>	76	69	2	3	0,33	56,10
4	<i>umc2281</i>	74	65	10	1	0,58	44,52
	<i>phi026</i>	61	83	4	2	3,36	6,67
	<i>bnlg1137</i>	66	74	7	3	0,45	49,89
	<i>dupssr34</i>	55	83	9	3	5,68	1,71
	<i>bnlg1444</i>	78	68	2	2	0,68	40,78
	<i>umc2138</i>	86	54	7	3	7,31	0,68
	<i>umc1058</i>	75	70	3	2	0,17	67,79
5	<i>bnlg1006</i>	75	67	0	8	0,45	50,20
	<i>umc1523</i>	84	64	2	0	2,70	10,01
	<i>umc1587</i>	83	63	1	3	2,74	9,78
	<i>bnlg1700</i>	88	51	8	3	9,84	0,16
	<i>bnlg278</i>	77	65	5	3	1,01	31,39
	<i>umc1680</i>	60	76	11	3	1,88	17,01
	<i>bnlg2305</i>	61	81	5	3	2,81	9,32
	<i>bnlg1885</i>	70	73	4	3	0,063	80,19
	<i>umc2136</i>	61	80	9	0	2,56	10,95
	<i>bnlg386</i>	69	68	9	4	0,007	93,19

LP179: cantidad de individuos que amplificaron el alelo de la línea LP179; L5605: cantidad de individuos que amplificaron el alelo de la línea L5605; Heterocigotas: cantidad de individuos que amplificaron los alelos de ambas líneas parentales; Datos perdidos: cantidad de individuos que no amplificaron ningún alelo o amplificaron un alelo raro; χ^2 : valor de la prueba de chi-cuadrado. *p*: valor de probabilidad asociada como porcentaje, del test estadístico; Criterio: FDR con un nivel de significancia del 5%. Valor crítico: 0%.

Continuación Tabla 26.

Cromosoma	Marcador	LP179	L5605	Heterocigotas	Datos perdidos	χ^2	<i>p</i> (%)
6	<i>bnlg238</i>	71	72	5	2	0,007	93,33
	<i>bnlg161</i>	61	79	6	4	2,31	12,81
	<i>bnlg426</i>	62	79	4	5	2,05	15,22
	<i>phi380203</i>	60	85	2	3	4,31	3,78
	<i>nc009</i>	52	85	10	3	7,94	0,48
	<i>umc2055</i>	72	71	7	0	0,007	93,33
	<i>phi452693</i>	75	68	4	3	0,34	55,82
	<i>bnlg1443</i>	61	84	2	3	3,64	5,61
	<i>bnlg1702</i>	67	72	6	5	0,18	67,14
	<i>nc013</i>	57	78	11	4	3,26	7,07
	<i>umc2375</i>	57	81	8	4	4,17	4,11
	<i>bnlg345</i>	59	87	3	1	5,37	2,04
	<i>umc2323</i>	81	63	5	1	2,25	13,36
	<i>bnlg1136</i>	80	62	5	3	2,28	13,09
<i>umc1127</i>	81	64	3	2	1,99	15,80	
7	<i>dupssr9</i>	75	71	3	1	0,11	74,06
	<i>bnlg1070</i>	68	77	3	2	0,56	45,48
	<i>umc2330</i>	72	70	4	4	0,03	86,67
	<i>bnlg2259</i>	68	72	5	5	0,11	73,53
	<i>phi082</i>	69	72	6	3	0,06	80,05
	<i>umc2333</i>	71	71	5	3	0,00	100,00
	<i>umc2190</i>	70	73	4	3	0,06	80,19
	<i>umc1799</i>	76	68	3	3	0,44	50,49
8	<i>bnlg2037</i>	80	64	4	2	1,77	18,24
	<i>phi119</i>	89	58	1	2	6,53	1,05
	<i>bnlg669</i>	81	63	2	4	2,25	13,36
	<i>phi014</i>	77	65	5	3	1,01	31,39
	<i>bnlg666</i>	85	57	5	3	5,52	1,87
	<i>bnlg1782</i>	75	63	8	4	1,04	30,70
	<i>bnlg1823</i>	80	66	3	1	1,34	24,66
	<i>phi015</i>	68	73	2	7	0,17	67,37
	<i>umc2357</i>	75	69	6	0	0,25	61,70
	<i>dupssr14</i>	77	67	1	5	0,69	40,46

LP179: cantidad de individuos que amplificaron el alelo de la línea LP179; L5605: cantidad de individuos que amplificaron el alelo de la línea L5605; Heterocigotas: cantidad de individuos que amplificaron los alelos de ambas líneas parentales; Datos perdidos: cantidad de individuos que no amplificaron ningún alelo o amplificaron un alelo raro; χ^2 : valor de la prueba de chi-cuadrado. *p*: valor de probabilidad asociada como porcentaje, del test estadístico; Criterio: FDR con un nivel de significancia del 5%. Valor crítico: 0%.

Continuación Tabla 26.

Cromosoma	Marcador	LP179	L5605	Heterocigotas	Datos perdidos	χ^2	<i>p</i> (%)
9	<i>bnlg1724</i>	73	72	4	1	0,007	93,38
	<i>umc1170</i>	68	72	6	4	0,11	73,53
	<i>umc1691</i>	63	79	7	1	1,80	17,93
	<i>umc1700</i>	68	76	6	0	0,44	50,49
	<i>bnlg1626</i>	64	78	5	3	1,38	24,00
10	<i>bnlg1451</i>	73	70	4	3	0,063	80,19
	<i>phi050</i>	68	82	0	0	1,31	25,29
	<i>bnlg1079</i>	64	78	5	3	1,38	24,00
	<i>umc1506</i>	67	72	7	4	0,18	67,14
	<i>bnlg2190</i>	61	73	13	3	1,07	29,99
	<i>bnlg1185</i>	64	74	10	2	0,72	39,46
	<i>bnlg1839</i>	66	71	10	3	0,18	66,92

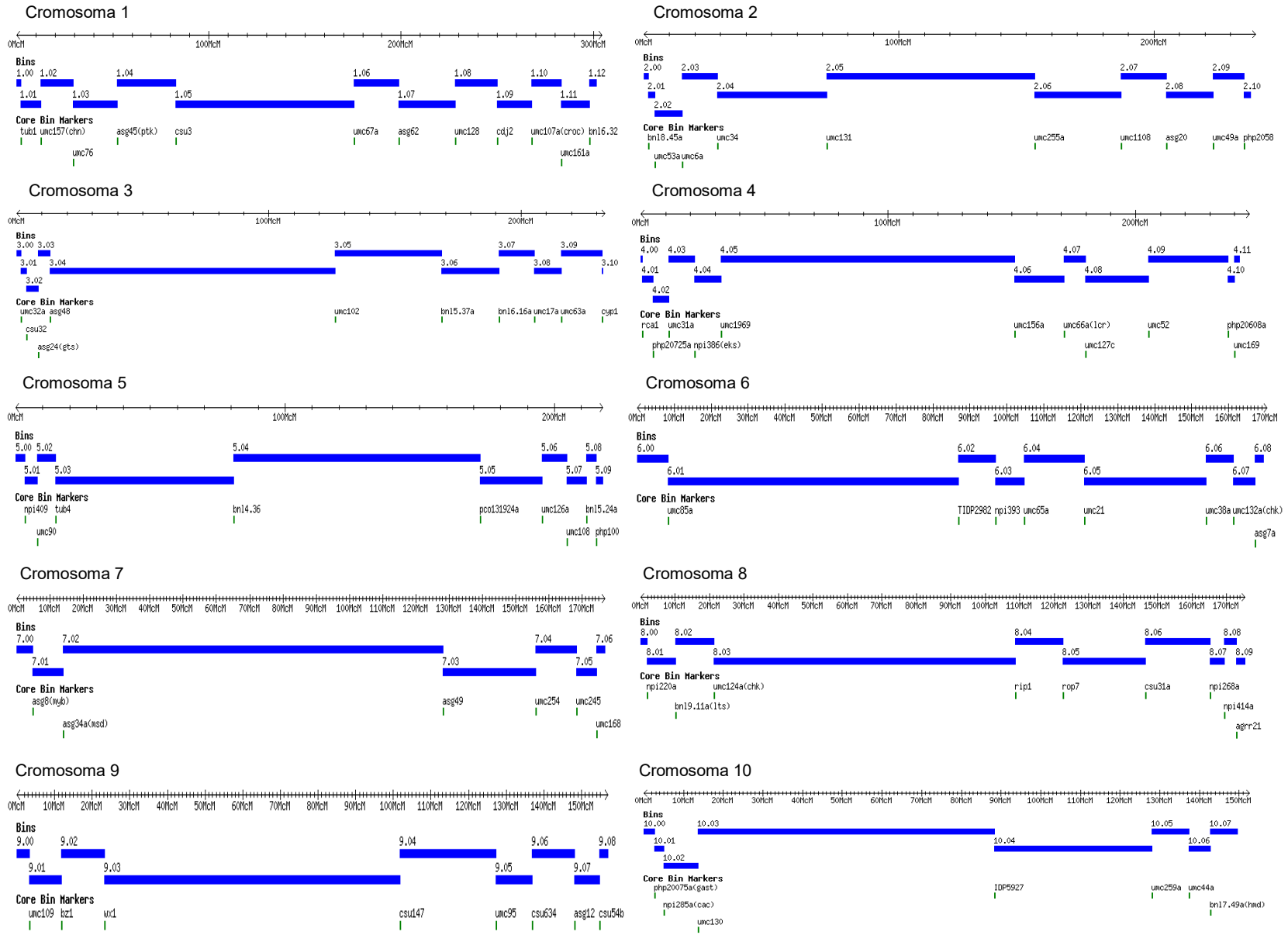
LP179: cantidad de individuos que amplificaron el alelo de la línea LP179; L5605: cantidad de individuos que amplificaron el alelo de la línea L5605; Heterocigotas: cantidad de individuos que amplificaron los alelos de ambas líneas parentales; Datos perdidos: cantidad de individuos que no amplificaron ningún alelo o amplificaron un alelo raro; χ^2 : valor de la prueba de chi-cuadrado. *p*: valor de probabilidad asociada como porcentaje, del test estadístico; Criterio: FDR con un nivel de significancia del 5%. Valor crítico: 0%.

El valor crítico del test estadístico es 0% debido a que los 103 marcadores incluidos en el presente análisis son los que se emplearon para la construcción del mapa de ligamiento y que previamente habían mostrado una segregación que no difería de la 1:1 esperada para una población de RILs cuando se los analizó en conjunto con los marcadores que mostraron una segregación estadísticamente diferente de la esperada.

3.2.2.1. COBERTURA DEL GENOMA

De los 100 bins en los que está dividido el genoma de maíz, 74 fueron cubiertos con marcadores moleculares. No se mapearon SSR en los bins 1.00, 1.09, 2.00, 2.09, 2.10, 3.02, 3.10, 4.00, 4.01, 4.02, 4.04, 4.10, 5.04, 6.02, 7.00, 7.01, 7.02, 8.00, 9.00, 9.05, 9.06, 9.07, 9.08, 10.00, 10.01 y 10.04. En la Figura 9 se muestra de manera esquemática el tamaño de cada uno de los bins para cada cromosoma. En la misma podrá observarse que todos los bins más importantes, de mayor tamaño, fueron cubiertos con marcadores, excepto los bins 5.04 y 7.02.

Figura 9: Longitud física de cada uno de los bins de cada cromosoma.



3.2.3. CONSTRUCCIÓN DEL MAPA DE LIGAMIENTO

En la Tabla 27 se muestra para cada cromosoma, el número de marcadores mapeados, la cobertura genómica alcanzada y la distancia promedio entre SSR.

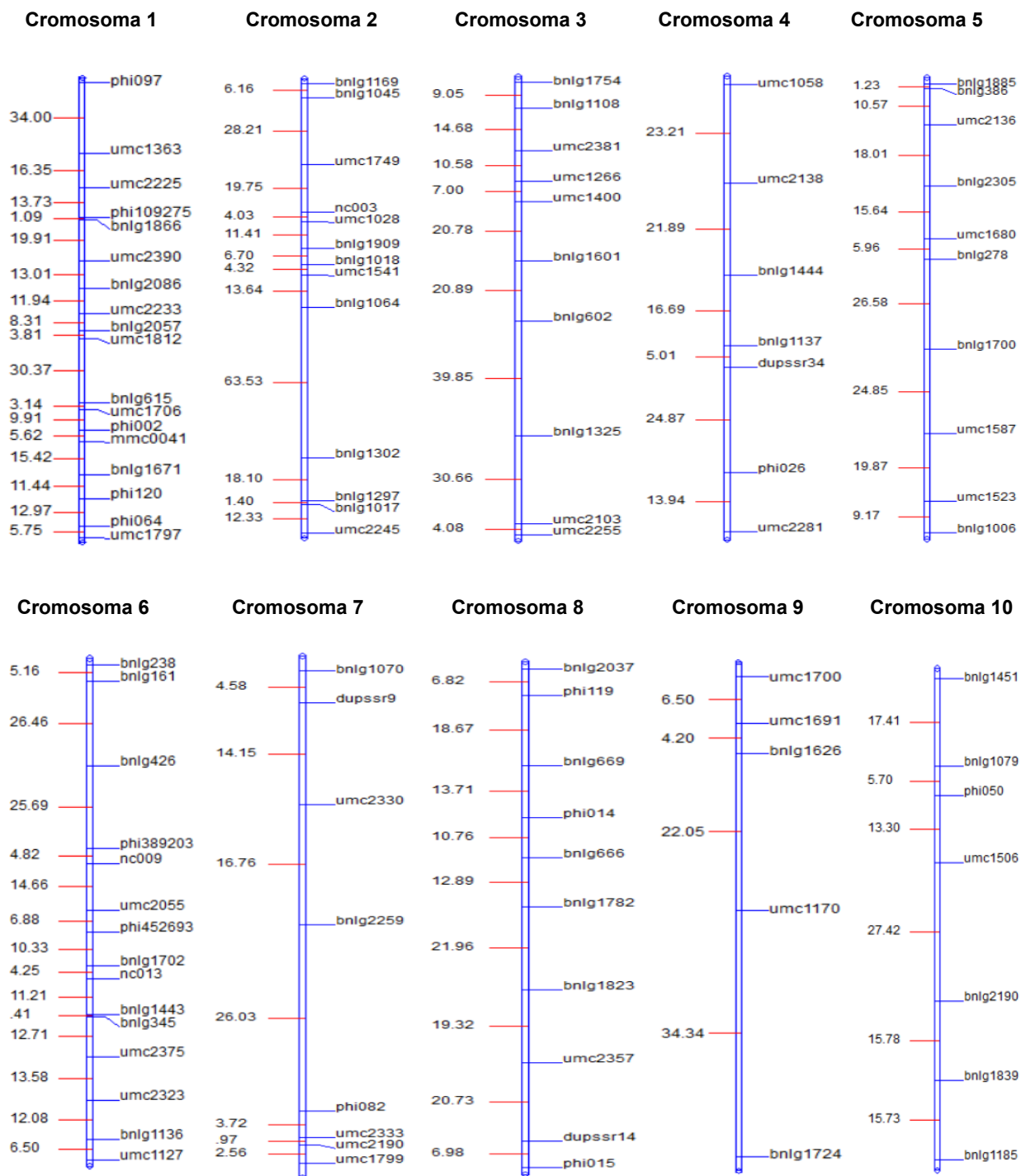
Tabla 27: Cantidad de marcadores por cromosoma, cobertura genómica y distancia promedio entre SSR.

Cromosoma	Marcadores	Cobertura (cM)	Distancia promedio entre SSR (cM)
1	18	216,90	12,05
2	13	189,50	14,57
3	10	157,80	15,78
4	7	105,60	15,08
5	10	132,00	13,20
6	15	154,90	10,32
7	8	68,90	8,61
8	10	131,90	13,19
9	5	67,10	13,42
10	7	95,30	13,60
Total	103	1319,90	12,80

Con los 103 marcadores empleados se cubrió una distancia total de 1319,90 cM con una distancia promedio entre SSR de 12,80 cM. En los cromosomas 1, 2 y 6 se mapearon la mayor cantidad de marcadores y se obtuvo la mayor cobertura genómica. En el cromosoma 9 se obtuvo la menor cobertura dado que se mapeó la menor cantidad de SSR.

En la Figura 10 se muestra el mapa de ligamiento compuesto por los 10 cromosomas.

Figura 10: Mapa de ligamiento obtenido a partir de la población de RILs.



Derecha del cromosoma: nombre del marcador molecular; Izquierda del cromosoma: distancia entre pares de marcadores adyacentes, en cM.

En algunas regiones del genoma la distancia entre dos marcadores adyacentes fue amplia. En el cromosoma 1, entre los SSR *phi097* y *umc1363* la distancia es de 34,0 cM y entre los SSR *umc1812* y *bnlg615* es de 30,3 cM. En el cromosoma 2, entre los marcadores *bnlg1302* y *bnlg1064* existe una distancia de 63,5 cM. En el cromosoma 3, entre los SSR *umc2103* y *bnlg1325* y en el intervalo comprendido por los SSR *bnlg1325* - *bnlg602* las distancias son de 30,6 cM y 39,8 cM respectivamente y, en el cromosoma 9 entre los marcadores *bnlg1724* y *umc1170* la distancia es de 34,3 cM. En la Tabla 28 se muestra para cada marcador en cada cromosoma, la posición dentro del grupo de ligamiento en cM, las coordenadas en pares de bases y la distancia física entre cada par de marcadores adyacentes, en millones de pares de bases.

Tabla 28: Posición de cada SSR en el mapa de ligamiento, coordenadas en pb y distancia física entre cada par de SSR.

Cromosoma	SSR	Posición (cM)	Coordenadas (pb)	Distancia (Mpb)
1	<i>phi097</i>	0,0	2106311 - 2106408	
	<i>umc1363</i>	34,0	7357821 - 7357908	5,2
	<i>umc2225</i>	50,4	15060917 - 15061048	7,7
	* <i>phi109275</i>	64,1	52310221 - 52310360	37,2
	* <i>bnlg1866</i>	65,2	51903802 - 51903914	0,4
	<i>umc2390</i>	85,1	70502789 - 70502876	18,6
	<i>bnlg2086</i>	98,1	85322186 - 85322401	14,8
	<i>umc2233</i>	110,1	167087458 - 167087592	81,7
	* <i>bnlg2057</i>	118,4	186946027 - 186946166	19,8
	* <i>umc1812</i>	122,2	182705126 - 182705260	4,2
	<i>bnlg615</i>	152,6	200720800 - 201559637	18,8
	<i>umc1706</i>	155,7	214573654 - 214573872	13,8
	<i>phi002</i>	165,6	231865707 - 231865783	17,2
	<i>mmc0041</i>	171,2	243206625 - 243206491	11,3
	<i>bnlg1671</i>	186,6	279928310 - 279928448	36,7
	<i>phi120</i>	198,1	292043170 - 292043146	12,1
	<i>phi064</i>	211,1	302190922 - 302191019	10,1
<i>umc1797</i>	216,9	306170700 - 306170805	3,9	

*: Marcadores con orden invertido; cM: centiMorgan; pb: pares de bases; Mpb: megapares de bases; nd: no determinado.

Continuación Tabla 28.

Cromosoma	SSR	Posición (cM)	Coordenadas (pb)	Distancia (Mpb)
2	<i>umc2245</i>	0,0	3080318 - 3080446	
	<i>*bnlg1017</i>	12,3	4863279 - 4863467	1,7
	<i>*bnlg1297</i>	13,7	4857809 - 4858007	0,0054
	<i>bnlg1302</i>	31,8	10213702 - 10545409	5,6
	<i>bnlg1064</i>	95,3	28258843 - 28258683	18,0
	<i>umc1541</i>	108,9	40260781 - 40260931	12,0
	<i>bnlg1018</i>	113,2	43585129 - 43585251	3,3
	<i>bnlg1909</i>	119,9	49590702 - 49590872	6,0
	<i>umc1028</i>	131,3	153242109 - 153242253	103,6
	<i>nc003</i>	135,3	179168084 - 179168191	25,9
	<i>umc1749</i>	155,1	187151730 - 187151877	7,9
	<i>bnlg1045</i>	183,3	210700616 - 210700816	23,5
	<i>bnlg1169</i>	189,5	214534065 - 214534296	3,8
	3	<i>*umc2255</i>	0,0	1001831 - 1001943
<i>*umc2103</i>		4,1	750919 - 751059	0,25
<i>bnlg1325</i>		34,8	4749806 - 4749957	3,9
<i>bnlg602</i>		74,7	110331785 - 110331925	105,5
<i>bnlg1601</i>		95,6	134926276 - 134926492	24,5
<i>umc1400</i>		116,4	170033560 - 170033725	35,1
<i>umc1266</i>		123,4	177339100 - 177339245	7,3
<i>umc2381</i>		134,0	190625841 - 190625982	13,2
<i>bnlg1108</i>		148,7	214571759 - 214571894	23,9
<i>bnlg1754</i>		157,8	221566434 - 221705947	7,1
4	<i>umc2281</i>	0,0	18374667 - 18374818	
	<i>phi026</i>	13,9	38554752 - 38554784	20,1
	<i>*dupssr34</i>	38,8	175129251 - 175129386	136,5
	<i>*bnlg1137</i>	43,8	172721406 - 172721651	2,4
	<i>bnlg1444</i>	60,5	182272791 - 185272942	12,5
	<i>umc2138</i>	82,4	239605120 - 239605339	57,3
	<i>umc1058</i>	105,6	245469418 - 245469520	5,8

*: Marcadores con orden invertido; cM: centiMorgan; pb: pares de bases; Mpb: megapares de bases; nd: no determinado.

Continuación Tabla 28.

Cromosoma	SSR	Posición (cM)	Coordenadas (pb)	Distancia (Mpb)
5	<i>bnlg1006</i>	0,0	2204781 - 2205011	
	<i>umc1523</i>	9,2	3471859 - 3471947	1,2
	<i>umc1587</i>	29,1	10405098 - 10405239	6,9
	<i>bnlg1700</i>	54,0	34487452 - 34487656	24,1
	<i>bnlg278</i>	80,6	200181511 - 200181446	165,6
	<i>umc1680</i>	86,6	202866876 - 202867005	2,6
	<i>bnlg2305</i>	102,2	213923478 - 213923659	11,0
	<i>umc2136</i>	120,2	220379300 - 220379449	6,4
	<i>bnlg386</i>	130,8	221689370 - 221689393	1,3
	<i>bnlg1885</i>	132,0	221801412 - 221801655	0,1
6	<i>bnlg238</i>	0,0	2126029 - 2126163	
	<i>bnlg161</i>	5,2	2126026 - 2126187	0,0
	<i>bnlg426</i>	31,7	28122234 - 28122347	25,9
	<i>phi389203</i>	57,4	122283400 - 122283707	94,1
	<i>nc009</i>	62,2	nd	nd
	<i>umc2055</i>	76,9	136355822 - 136355901	nd
	<i>phi452693</i>	83,8	nd	nd
	<i>bnlg1702</i>	94,1	151092620 - 151092641	nd
	<i>nc013</i>	98,4	152843041 - 152843160	1,7
	<i>bnlg1443</i>	109,6	157521051 - 157521229	4,6
	<i>bnlg345</i>	110,0	157678264 - 157678392	0,15
	<i>umc2375</i>	122,7	163651618 - 163651760	5,9
	<i>umc2323</i>	136,3	167241060 - 167241209	3,5
	<i>bnlg1136</i>	148,4	170150012 - 170150218	2,9
<i>umc1127</i>	154,9	172244749 - 172244895	2,1	
7	<i>bnlg1070</i>	0,0	137243369 - 137243581	
	<i>dupssr9</i>	4,6	138407577 - 138407714	1,1
	<i>umc2330</i>	18,8	161356292 - 161356315	22,9
	<i>bnlg2259</i>	35,6	170383149 - 170383314	9,1
	<i>phi082</i>	61,6	177325651 - 177325674	6,9
	<i>umc2333</i>	65,3	179334492 - 179334625	2,0
	<i>umc2190</i>	66,3	179349543 - 179349700	0,015
	<i>umc1799</i>	68,9	180357025 - 180357124	1,0

*: Marcadores con orden invertido; cM: centiMorgan; pb: pares de bases; Mpb: megapares de bases; nd: no determinado.

Continuación Tabla 28.

Cromosoma	SSR	Posición (cM)	Coordenadas (pb)	Distancia (Mpb)
8	<i>bnlg2037</i>	0,0	10957675 - 10957847	
	<i>phi119</i>	6,8	14453921 - 14454084	3,4
	<i>bnlg669</i>	25,5	23366307 - 23366431	8,9
	<i>phi014</i>	39,2	111651675 - 111651814	88,2
	<i>bnlg666</i>	50,0	137739566 - 137739680	26,1
	<i>bnlg1782</i>	62,9	161251741 - 161251961	23,5
	<i>bnlg1823</i>	84,9	173024014 - 173024196	11,7
	<i>umc2357</i>	104,2	175295759 - 175295884	2,2
	<i>dupssr14</i>	124,9	177043259 - 177043363	1,7
	<i>phi015</i>	131,9	178412334 - 178412428	1,3
9	<i>bnlg1724</i>	0,0	3988151 - 3988304	
	<i>umc1170</i>	34,3	12698567 - 12698717	8,7
	<i>bnlg1626</i>	56,4	92001009 - 92001204	79,3
	<i>umc1691</i>	60,6	99138520 - 99138656	7,1
	<i>umc1700</i>	67,1	102441014 - 102441101	3,3
10	<i>bnlg1451</i>	0,0	4875130 - 4875758	
	<i>bnlg1079</i>	17,4	76675538 - 76675715	71,8
	<i>phi050</i>	23,1	85126356 - 85126441	8,4
	<i>umc1506</i>	36,4	134476821 - 134476925	49,3
	<i>bnlg2190</i>	63,8	142870468 - 142870700	8,3
	<i>bnlg1839</i>	79,6	145970332 - 145970507	3,1
	<i>bnlg1185</i>	95,3	149279000 - 149279115	3,3

*: Marcadores con orden invertido; cM: centiMorgan; pb: pares de bases; Mpb: megapares de bases; nd: no determinado.

Mediante la determinación de las coordenadas en pares de bases de cada marcador, la cual se efectuó realizando la búsqueda de las posiciones correspondientes a los oligonucleótidos en el genoma por el método BLASTN en la base de datos gramene.org (<http://ensembl.gramene.org/Tools/Blast?db=core>) y mediante la búsqueda de la posición publicada para cada SSR en *Locus Lookup* en la base de datos MaizeGDB (https://www.maizegdb.org/locus_lookup), se pudo analizar el orden de los marcadores en el mapa de ligamiento. Cinco pares de marcadores presentaron un orden invertido. En el cromosoma 1, el marcador *phi109275* en el bin 1.03 con *bnlg1866* en el mismo bin. Además, en el mismo cromosoma, el SSR *bnlg2057* en el bin 1.06 con *umc1812*, del mismo bin, presentaron un orden invertido. En el cromosoma 2, el marcador *bnlg1017* en el bin 2.02 y *bnlg1297* en el

mismo bin presentaron un orden alterado. En el cromosoma 3, el SSR *umc2255* en el bin 3.01 y *umc2103* en el bin 3.00 y, en el cromosoma 4, *dupssr34* en el bin 4.07 y *bnlg1137* en el bin 4.06 mostraron un orden invertido.

En cuanto a la cobertura física obtenida, existen regiones amplias, mayores a 50 Mpb en casi todos los cromosomas, sin cobertura con marcadores. En el cromosoma 1, entre los SSR *bnlg2086* y *umc2233*, en el cromosoma 2 entre los marcadores *bnlg1909* y *umc1028*, en el cromosoma 3 entre *bnlg1325* y *bnlg602*, en el cromosoma 4 entre *phi026* y *dupssr34*, en el cromosoma 5 entre *bnlg1700* y *bnlg278*, en el cromosoma 6, entre *bnlg426* y *phi389203*, en el cromosoma 8 entre *bnlg669* y *phi014*, en el cromosoma 9 entre *umc1170* y *bnlg1626* y en el cromosoma 10 entre los SSR *bnlg1451* y *bnlg1079*. La información referida a las coordenadas en las cuales comienza cada uno de los bins en cada cromosoma fue obtenida de la base de datos Maize GDB (http://curation.maizegdb.org/cgi-bin/bin_viewer.cgi).

3.3. MAPEO DE QTLs

3.3.1. MAPEO POR INTERVALO COMPUESTO

Se identificaron 73 QTLs asociados a los caracteres EA, ES, ASI, AP, NHT, LE, ÁNG, LMH, AMH, PHV, PES, TSP1, TSP2, BIO, RGP, NGP, PG e IC, en los tres ambientes evaluados. El único carácter para el cual no se detectó ningún QTL fue IAF. Para el resto de los rasgos se identificó un QTL en al menos un ambiente. En la Tabla 29 se muestran los QTLs identificados mediante mapeo por intervalo compuesto en los tres experimentos.

Tabla 29: QTLs identificados para cada rasgo en cada experimento mediante mapeo por intervalo compuesto.

QTL	Exp	LOD _{umbral}	LOD _{max}	Cr	Bin	Pos (cM)	IC	MMF	MMC	QTL-MMC(cM)	R ²	A
EA1-9	1	2,8	3,2	9	9.03-9.04	56,4	53,8-60,6	<i>bnlg1626-umc1691</i>	<i>bnlg1626</i>	0,0	8,4	-0,91
EA3-3	3	2,9	4,0	3	3.05-3.06	117,4	100,6-122,4	<i>umc1400-umc1266</i>	<i>umc1400</i>	1,0	11,5	0,65
ES1-7	1	2,8	3,9	7	7.06	68,8	65,8-68,8	<i>umc2190-umc1799</i>	<i>umc1799</i>	0,0	9,9	0,91
ASI1-7a	1	2,9	3,1	7	7.04	18,6	13,6-32,3	<i>umc2330-bnlg2259</i>	<i>umc2330</i>	0,2	7,3	0,52
ASI1-7b	1	2,9	4,7	7	7.06	66,3	65,3-68,3	<i>umc2190-umc1799</i>	<i>umc2190</i>	0,5	10,7	0,63
ASI3-4	3	3,0	3,6	4	4.03	2,0	0,0-8,0	<i>umc2281-phi026</i>	<i>umc2281</i>	2,0	13,7	-0,58
AP1-4	1	3,1	3,5	4	4.05	11,0	3,5-22,4	<i>umc2281-phi026</i>	<i>phi026</i>	3,4	12,0	-4,04
AP2-2	2	2,9	3,3	2	2.02	31,8	29,7-34,8	<i>bnlg1297-bnlg1302</i>	<i>bnlg1302</i>	0,0	8,5	5,64
AP2-6	2	2,9	3,3	6	6.07	148,4	141,8-154,4	<i>bnlg1136-umc1127</i>	<i>bnlg1136</i>	0,0	8,2	-5,71
AP2-7	2	2,9	3,0	7	7.04	35,3	27,3-42,1	<i>umc2330-bnlg2259</i>	<i>bnlg2259</i>	0,3	7,9	5,49
AP3-4	3	2,8	3,0	4	4.09	82,4	80,0-92,4	<i>umc2138-umc1058</i>	<i>umc2138</i>	0,0	7,9	-5,17
NHT1-3	1	2,9	4,4	3	3.06	123,4	122,9-128,9	<i>umc1266-umc2381</i>	<i>umc1266</i>	0,0	10,8	0,43
NHT2-3	2	3,0	4,6	3	3.05-3.06	116,1	107,6-120,4	<i>umc1400-umc1266</i>	<i>umc1400</i>	0,3	13,5	0,56
NHT3-3	3	3,0	4,5	3	3.06	123,4	118,4-126,4	<i>umc1400-umc1266</i>	<i>umc1266</i>	0,0	12,1	0,46
NHT3-10	3	3,0	3,2	10	10.05	39,4	36,4-50,4	<i>umc1506-bnlg2190</i>	<i>umc1506</i>	3,0	10,9	-0,41
LE1-2	1	3,0	3,1	2	2.01	0,0	0,0-6,5	<i>umc2245-bnlg1017</i>	<i>umc2245</i>	0,0	8,1	-0,31
LE2-4	2	3,2	3,5	4	4.03	1,5	0,0-9,5	<i>umc2281-phi026</i>	<i>umc2281</i>	1,5	11,0	-0,48
LE3-5	3	2,9	3,2	5	5.01	14,7	4,0-22,2	<i>umc1523-umc1587</i>	<i>umc1523</i>	5,5	15,9	0,66

Exp: experimento; LOD_{umbral}: valor de LOD determinado mediante el test de 1000 permutaciones para considerar significativo un QTL; LOD_{max}: valor máximo de LOD para cada QTL; Cr: Cromosoma; Pos (cM): posición en la que se obtuvo el LOD_{max} para cada QTL; IC: intervalo de confianza determinado como ± 1 LOD hacia ambos lados del LOD_{max}; MMF: marcadores moleculares que flanquean el QTL; MMC: marcador molecular más cercano al pico de LOD_{max}; QTL-MMC (cM): distancia entre la posición del LOD_{max} y el marcador molecular más cercano; R²: proporción de la varianza fenotípica explicada por el QTL; A: efecto aditivo con respecto al alelo del parental LP179; el nombre del QTL está formado por el nombre del carácter al cual está asociado, más el número de experimento en el cual se detectó, más el número de cromosoma en el cual se encuentra, seguido por una letra en el caso de que hubiese más de un QTL en un mismo cromosoma para un mismo carácter en el mismo experimento. EA: periodo emergencia-antesis; ES: periodo emergencia-silking; ASI: intervalo antesis-silking; AP: altura de planta; NHT: número de hojas totales; LE: longitud promedio de entrenudos.

Continuación Tabla 29.

QTL	Exp	LOD _{umbral}	LOD _{max}	Cr	Bin	Pos (cM)	IC	MMF	MMC	QTL-MMC(cM)	R ²	A
ÁNG1-2a	1	2,7	3,3	2	2.02	31,7	22,7-34,8	<i>bnlg1297-bnlg1302</i>	<i>bnlg1302</i>	0,1	7,4	-1,78
ÁNG1-2b	1	2,7	2,9	2	2.03	94,8	91,3-95,3	<i>bnlg1064-umc1541</i>	<i>bnlg1064</i>	0,5	7,0	-1,75
ÁNG1-3a	1	2,7	3,1	3	3.06-3.07	129,9	124,9-133,9	<i>umc1266-umc2381</i>	<i>umc2381</i>	4,1	11,7	2,29
ÁNG1-3b	1	2,7	3,4	3	3.06-3.07	137,5	133,9-145,0	<i>umc2381-bnlg1108</i>	<i>umc2381</i>	3,5	11,9	2,28
ÁNG1-5	1	2,7	3,5	5	5.06	86,1	80,6-90,6	<i>bnlg278-umc1680</i>	<i>umc1680</i>	0,5	8,4	1,90
ÁNG1-7	1	2,7	5,8	7	7.04	18,6	13,6-24,8	<i>umc2330-bnlg2259</i>	<i>umc2330</i>	0,2	13,8	2,41
ÁNG2-7	2	2,8	5,0	7	7.04	18,6	10,1-25,3	<i>dupsr9-umc2330</i>	<i>umc2330</i>	0,2	13,1	2,61
ÁNG3-7a	3	3,6	4,5	7	7.04	18,6	12,1-18,8	<i>dupsr9-umc2330</i>	<i>umc2330</i>	0,2	11,8	2,81
ÁNG3-7b	3	3,6	4,6	7	7.04	23,8	18,8-32,3	<i>umc2330-bnlg2259</i>	<i>umc2330</i>	5,0	19,3	3,56
LMH1-4	1	2,8	3,7	4	4.05	13,5	7,5-32,4	<i>phi026-dupsr34</i>	<i>phi026</i>	0,4	9,6	-1,70
LMH1-8	1	2,8	2,9	8	8.09	124,9	117,2-127,4	<i>umc2357-dupsr14</i>	<i>dupsr14</i>	0,0	7,2	-1,44
LMH1-10	1	2,8	3,2	10	10.03	29,1	23,1-36,4	<i>phi050-umc1506</i>	<i>phi050</i>	5,0	12,6	1,90
LMH3-7	3	2,9	3,6	7	7.05	64,6	61,6-68,8	<i>phi082-umc2333</i>	<i>umc2333</i>	0,7	11,1	1,76
LMH3-10	3	2,9	4,9	10	10.03	17,0	11,5-20,9	<i>bnlg1451-bnlg1079</i>	<i>bnlg1079</i>	0,4	15,2	2,05
AMH1-1a	1	3,0	3,9	1	1.04	95,6	88,6-100,6	<i>umc2390-bnlg2086</i>	<i>bnlg2086</i>	2,5	13,7	0,30
AMH1-1b	1	3,0	4,6	1	1.10	192,1	186,6-198,1	<i>bnlg1671-phi120</i>	<i>bnlg1671</i>	5,5	19,0	0,36
AMH1-1c	1	3,0	4,8	1	1.11	203,1	198,1-207,1	<i>phi120-phi064</i>	<i>phi120</i>	5,0	24,0	0,41
PHV1-1	1	2,8	3,2	1	1.04	98,1	91,6-102,1	<i>umc2390-bnlg2086</i>	<i>bnlg2086</i>	0,0	8,1	2,79
PHV1-7a	1	2,8	3,6	7	7.05	60,1	48,6-61,6	<i>bnlg2259-phi082</i>	<i>phi082</i>	1,5	11,4	3,37
PHV1-7b	1	2,8	4,2	7	7.05	65,3	61,6-66,3	<i>phi082-umc2333</i>	<i>umc2333</i>	0,0	10,4	3,18
PHV1-7c	1	2,8	3,8	7	7.06	68,3	66,3-68,8	<i>umc2190-umc1799</i>	<i>umc1799</i>	1,0	9,9	3,11
PHV2-3	2	3,0	4,3	3	3.05	93,2	84,2-102,1	<i>bnlg602-bnlg1601</i>	<i>bnlg1601</i>	2,4	16,5	3,44
PHV2-10	2	3,0	4,5	10	10.05	36,1	30,6-36,4	<i>phi050-umc1506</i>	<i>umc1506</i>	0,3	13,2	3,31
PHV3-1	3	2,7	3,0	1	1.06	118,4	118,1-122,2	<i>bnlg2057-umc1812</i>	<i>bnlg2057</i>	0,0	8,0	1,95

ÁNG: ángulo vertical de inserción foliar; LMH: longitud máxima de la hoja; AMH: ancho máximo de la hoja; PHV: persistencia de las hojas verdes en postfloración.

Continuación Tabla 29.

QTL	Exp	LOD _{umbral}	LOD _{max}	Cr	Bin	Pos (cM)	IC	MMF	MMC	QTL-MMC(cM)	R ²	A
<i>PES1-1</i>	1	2,8	2,8	1	1.04	98,1	90,6-102,6	<i>umc2390-bnlg2086</i>	<i>bnlg2086</i>	0,0	6,8	2,76
<i>PES1-7a</i>	1	2,8	3,2	7	7.05	59,6	46,6-61,6	<i>bnlg2259-phi082</i>	<i>phi082</i>	2,0	10,5	3,47
<i>PES1-7b</i>	1	2,8	3,2	7	7.05	65,3	61,6-66,3	<i>phi082-umc2333</i>	<i>umc2333</i>	0,0	8,0	3,01
<i>PES1-7c</i>	1	2,8	3,3	7	7.06	68,8	66,3-68,8	<i>umc2190-umc1799</i>	<i>umc1799</i>	0,0	7,9	3,01
<i>PES2-3</i>	2	2,8	5,4	3	3.05	94,7	85,2-99,1	<i>bnlg602-bnlg1601</i>	<i>bnlg1601</i>	0,9	17,6	3,69
<i>PES2-10</i>	2	2,8	5,2	10	10.05	34,6	29,1-36,4	<i>phi050-umc1506</i>	<i>umc1506</i>	1,8	18,1	3,72
<i>PES3-1</i>	3	2,7	2,9	1	1.04	96,1	89,1-104,1	<i>umc2390-bnlg2086</i>	<i>bnlg2086</i>	2,0	10,3	2,27
<i>PES3-3a</i>	3	2,7	4,9	3	3.05	87,7	80,7-95,6	<i>bnlg602-bnlg1601</i>	<i>bnlg1601</i>	7,9	30,6	3,94
<i>PES3-3b</i>	3	2,7	4,2	3	3.05	100,6	95,6-108,6	<i>bnlg1601-umc1400</i>	<i>bnlg1601</i>	5,0	22,1	3,34
<i>TSP1-1-1</i>	1	2,5	3,4	1	1.04	98,1	88,1-103,6	<i>umc2390-bnlg2086</i>	<i>bnlg2086</i>	0,0	8,5	-0,011
<i>TSP1-1-7</i>	1	2,5	3,1	7	7.05	65,3	63,6-68,8	<i>umc2333-umc2190</i>	<i>umc2333</i>	0,0	7,4	-0,010
<i>TSP1-2-3</i>	2	3,2	3,6	3	3.05	95,6	85,7-100,6	<i>bnlg602-bnlg1601</i>	<i>bnlg1601</i>	0,0	9,1	-0,012
<i>TSP1-2-10</i>	2	3,2	9,4	10	10.05	35,1	31,1-40,4	<i>phi050-umc1506</i>	<i>umc1506</i>	1,3	30,5	-0,021
<i>TSP2-1-2</i>	1	2,9	4,3	2	2.02	13,3	4,0-19,7	<i>bnlg1017-bnlg1297</i>	<i>bnlg1297</i>	0,4	12,0	3,35
<i>TSP2-2-2</i>	2	2,8	2,9	2	2.02	13,3	12,3-21,2	<i>bnlg1017-bnlg1297</i>	<i>bnlg1297</i>	0,4	9,8	5,53
<i>BIO2-2</i>	2	2,9	3,1	2	2.02	31,8	31,7-37,3	<i>bnlg1302-bnlg1064</i>	<i>bnlg1302</i>	0,0	9,7	9,30
<i>BIO2-8</i>	2	2,9	3,1	8	8.06	57,5	51,0-62,9	<i>bnlg666-bnlg1782</i>	<i>bnlg1782</i>	5,4	15,0	-11,66
<i>BIO3-3</i>	3	2,8	3,3	3	3.06	123,4	122,4-128,4	<i>umc1266-umc2381</i>	<i>umc1266</i>	0,0	7,9	6,29
<i>BIO3-8</i>	3	2,8	6,6	8	8.06	62,9	59,0-66,9	<i>bnlg666-bnlg1782</i>	<i>bnlg1782</i>	0,0	17,0	-8,70

PES: periodo emergencia-senescencia; TSP: tasa promedio de senescencia en postfloración; BIO: biomasa aérea en madurez fisiológica.

Continuación Tabla 29.

QTL	Exp	LOD _{umbral}	LOD _{max}	Cr	Bin	Pos (cM)	IC	MMF	MMC	QTL-MMC(cM)	R ²	A
<i>RGP3-8</i>	3	2,9	3,0	8	8.06	62,9	58,0-75,9	<i>bnlg1782-bnlg1823</i>	<i>bnlg1782</i>	0,0	8,4	-4,16
<i>NGP2-6a</i>	2	2,9	3,4	6	6.01	42,2	31,7-49,2	<i>bnlg426-phi389203</i>	<i>bnlg426</i>	10,5	31,1	-55,50
<i>NGP2-6b</i>	2	2,9	3,0	6	6.07	141,3	136,2-148,3	<i>umc2323-bnlg1136</i>	<i>umc2323</i>	5,0	12,6	36,12
<i>NGP3-4a</i>	3	3,0	3,8	4	4.05	22,9	16,9-27,9	<i>phi026-dupssr34</i>	<i>phi026</i>	9,0	34,5	45,31
<i>NGP3-4b</i>	3	3,0	3,4	4	4.11	105,4	96,4-105,4	<i>umc2138-umc1058</i>	<i>umc1058</i>	0,0	9,3	23,41
<i>NGP3-8</i>	3	3,0	3,1	8	8.06	62,9	58,0-76,9	<i>bnlg1782-bnlg1823</i>	<i>bnlg1782</i>	0,0	8,0	-21,74
<i>PG1-5</i>	1	2,9	3,3	5	5.09	130,7	124,7-131,8	<i>umc2136-bnlg386</i>	<i>bnlg386</i>	0,1	9,7	-10,79
<i>PG2-4</i>	2	2,8	3,6	4	4.03	0,00	0,0-5,0	<i>umc2281-phi026</i>	<i>umc2281</i>	0,0	10,2	-10,88
<i>PG2-8</i>	2	2,8	3,3	8	8.03	31,5	25,5-44,2	<i>bnlg669-phi014</i>	<i>bnlg669</i>	6,0	14,9	-13,46
<i>IC3-4a</i>	3	3,1	3,7	4	4.05	8,0	1,0-13,0	<i>umc2281-phi026</i>	<i>phi026</i>	5,9	16,1	0,039
<i>IC3-4b</i>	3	3,1	4,2	4	4.05	15,9	13,0-23,9	<i>phi026-dupssr34</i>	<i>phi026</i>	2,0	15,3	0,039
<i>IC3-7</i>	3	3,1	3,4	7	7.04	34,8	26,8-35,6	<i>umc2330-bnlg2259</i>	<i>bnlg2259</i>	0,8	10,6	0,033

RGP: rendimiento en grano por planta; NGP: número de granos por planta; PG: peso del grano; IC: índice de cosecha.

En el Exp1 se identificaron 31 QTLs asociados a EA, ES, ASI, AP, NHT, LE, ÁNG, LMH, AMH, PHV, PES, TSP1, TSP2 y PG. En el Exp2 se detectaron 19 QTLs asociados a AP, NHT, LE, ÁNG, PHV, PES, TSP1, TSP2, BIO, NGP y PG. En el Exp3 se identificaron 23 regiones genómicas asociadas a EA, ASI, AP, NHT, LE, ÁNG, LMH, PHV, PES, BIO, RGP, NGP e IC.

Se detectaron QTLs en los diez cromosomas. El porcentaje de varianza fenotípica explicado por los QTLs individuales varió entre 6,8% (*PES1-1*) y 34,5% (*NGP3-4a*). Los valores de LOD_{umbral} obtenidos mediante la prueba de 1000 permutaciones variaron entre 2,5 para TSP1 en el Exp1 y 3,6 para ÁNG en el Exp3. Los valores de LOD_{max} que arrojaron los QTLs variaron entre 2,8 (*PES1-1*) y 9,4 (*TSP1-2-10*).

Para los caracteres asociados a floración (EA, ES y ASI) se identificaron seis QTLs, de los cuales dos estuvieron asociados a EA, en el cromosoma 9 (Exp1) y en el cromosoma 3 (Exp3). Un QTL estuvo asociado a ES en el cromosoma 7 (Exp1) y tres QTLs asociados a ASI, de los cuales, dos se detectaron en el cromosoma 7 (Exp1) y uno en el cromosoma 4 (Exp3). El QTL *ES1-7* comparte intervalo con el QTL *ASI1-7b*.

Para el carácter AP se detectaron cinco regiones genómicas, una en el Exp1 en el cromosoma 4, tres en el Exp2 en los cromosomas 2, 6 y 7 que explicaron el 24,6% de la varianza fenotípica y uno en el Exp3 en el cromosoma 4.

Se identificaron cuatro QTLs asociados a NHT. Uno en el Exp1 en el cromosoma 3, uno en el Exp2 en el cromosoma 3 y dos en el Exp3 en los cromosomas 3 y 10 que explicaron el 23,0% de la varianza fenotípica. Los QTLs *NHT1-3* y *NHT3-3* están ubicados en la misma posición.

Para LE se detectaron tres QTLs, uno en cada ensayo, en los cromosomas 2, 4 y 5 y el porcentaje de varianza fenotípica explicado por cada QTL fue de 8,1%, 11,0% y 15,9% respectivamente.

Se detectaron nueve regiones genómicas asociadas a ÁNG. Seis en el Exp1 en los cromosomas 2, 3, 5 y 7 que explicaron el 60,2% de la varianza fenotípica, 1 QTL en el Exp2 en el cromosoma 7 y dos QTLs en el Exp3 en el cromosoma 7 que explicaron el 31,1% de la varianza fenotípica. Los QTLs *ÁNG1-7*, *ÁNG2-7* y *ÁNG3-7a* se localizaron en la misma posición.

Para el carácter LMH se identificaron cinco QTLs. Tres en el Exp1 en los cromosomas 4, 8 y 10 que explicaron el 29,4% de la varianza fenotípica, y dos regiones en el Exp3 en los cromosomas 7 y 10 que explicaron el 26,3% de la variación.

Para AMH se detectaron tres QTLs, todos en el Exp1 en el cromosoma 1 que explicaron el 56,7% de la varianza fenotípica.

Se identificaron siete QTLs asociados a PHV, de los cuales cuatro fueron detectados en el Exp1 en los cromosomas 1 y 7 y explicaron el 39,8% de la variación fenotípica. Dos regiones fueron identificadas en el Exp2 en los cromosomas 3 y 10 que explicaron el 29,7% de la varianza fenotípica y 1 QTL en el Exp3 en el cromosoma 1.

Para el carácter PES se detectaron nueve QTLs. Cuatro en el Exp1 en los cromosomas 1 y 7 que explicaron el 33,2% de la varianza fenotípica, 2 regiones en el Exp2 en los cromosomas 3 y 10 que explicaron el 35,7% de la varianza fenotípica y tres en el Exp3 en los cromosomas 1 y 3 que explicaron el 63,0% de la variación del carácter. Los QTLs *PES1-1* y *PES3-1* poseen intervalos comunes y los QTLs *PHV1-1* y *PES1-1* se encuentran en la misma posición. Además, los QTLs *PHV1-7a* y *PES1-7a*, *PHV1-7b* y *PES1-7b*, *PHV1-7c* y *PES1-7c*, *PHV2-3* y *PES2-3*, y *PHV2-10* y *PES2-10* poseen localizaciones muy similares.

Para la TSP1 se identificaron cuatro regiones genómicas, dos en el Exp1 en los cromosomas 1 y 7 que explicaron el 15,9% de la varianza fenotípica y dos en el Exp2 en los cromosomas 3 y 10 que explicaron el 39,6% de la variación. Los QTLs *TSP1-1-1*, *PHV1-1* y *PES1-1* comparten la misma posición al igual que los QTLs *TSP1-1-7*, *PHV1-7b* y *PES1-7b*.

Para el carácter TSP2 se identificaron dos QTLs, uno en el Exp1 y el otro en el Exp2, los cuales se encuentran en el cromosoma 2 en la misma posición.

Se identificaron cuatro QTLs asociados a BIO, dos en el Exp2 en los cromosomas 2 y 8 que explicaron el 24,7% de la variación fenotípica y dos en el Exp3 en los cromosomas 3 y 8 que explicaron el 24,9% de la variación fenotípica.

Para RGP se detectó un solo QTL en el Exp3, en el cromosoma 8 cuya posición coincide con el QTL *BIO3-8*.

Para NGP se identificaron cinco QTLs, dos en el Exp2, ambos en el cromosoma 6 que explicaron el 43,7% de la varianza fenotípica y tres en el Exp3 en los cromosomas 4 y 8 que explicaron el 51,8% de la varianza fenotípica. El QTL *NGP3-8* coincide en su posición con los QTLs *RGP3-8* y *BIO3-8*.

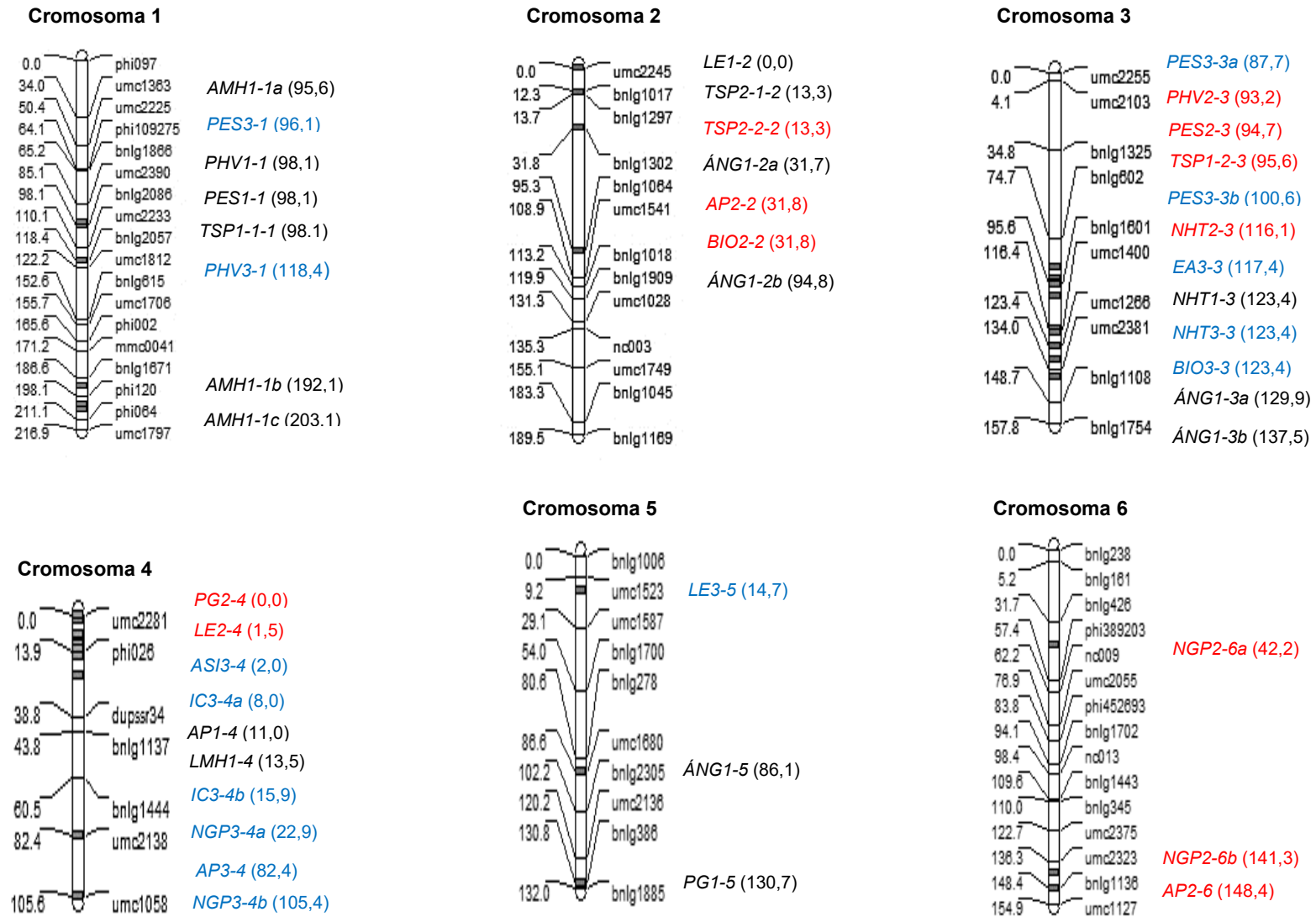
Para PG se detectaron tres regiones, una en el Exp1 en el cromosoma 5 y dos en el Exp2 en los cromosomas 4 y 8, que explicaron el 25,1% de la variación del carácter.

Para IC se identificaron tres QTLs, todos en el Exp3, en los cromosomas 4 y 7 que explicaron el 42,0% de la variación fenotípica.

Para los rasgos ES, AMH, PHV, PES, TSP2 e IC todos los QTLs identificados poseen un efecto aditivo positivo indicando que la línea parental LP179 aportó los alelos que aumentan el valor medio de estos caracteres. Para PG y TSP1 todos los QTLs poseen efecto aditivo negativo,

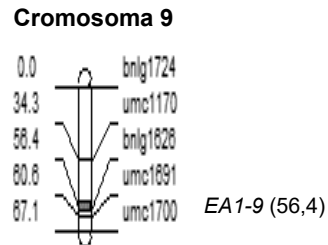
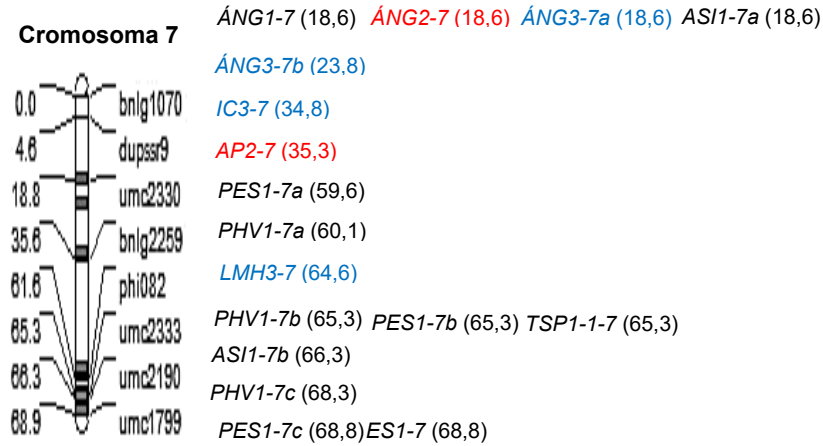
lo cual significa que la línea parental LP179 aportó los alelos que disminuyen los valores medios de estos rasgos. Para el resto de los caracteres se encontraron QTLs tanto con efecto aditivo positivo como negativo indicando que ambas líneas parentales aportaron alelos que suman o restan a los valores medios de los mismos. En la Figura 11 se muestran los QTLs localizados en cada uno de los cromosomas.

Figura 11: Ubicación de los QTLs detectados en los 10 cromosomas mediante CIM.

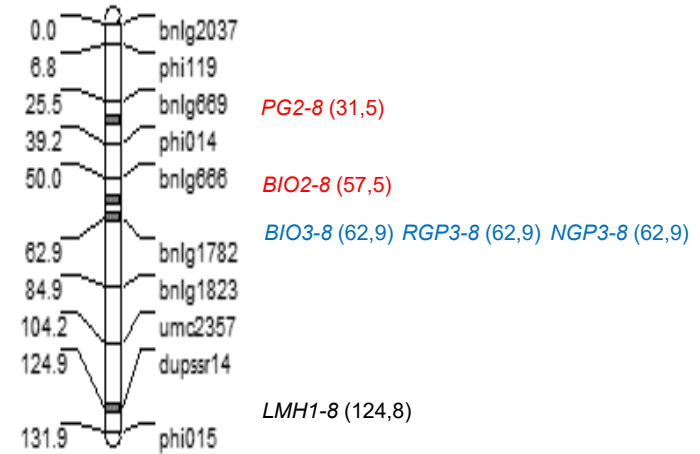


A la derecha de cada cromosoma se muestran los QTL con la posición entre paréntesis. El color negro corresponde a los QTL detectados en el Exp1, el rojo a los detectados en el Exp2 y el azul a los del Exp3.

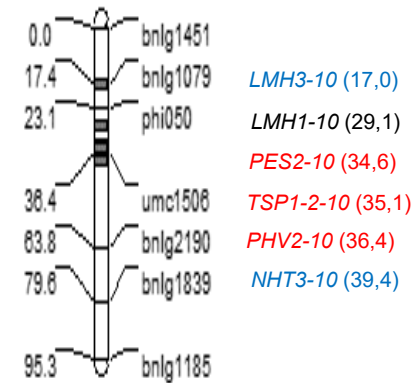
Continuación Figura 11.



Cromosoma 8



Cromosoma 10



A la derecha de cada cromosoma se muestran los QTLs con la posición entre paréntesis. El color negro corresponde a los QTLs detectados en el Exp1, el rojo a los detectados en el Exp2 y el azul a los del Exp3.

En los cromosomas 7 y 3 se detectaron la mayor cantidad de QTLs (17 y 12 respectivamente). En el cromosoma 4 se detectaron diez QTLs, en el cromosoma 1 ocho QTLs, en el cromosoma 2 siete regiones genómicas, en los cromosomas 8 y 10 se detectaron seis QTLs, en los cromosomas 5 y 6 se identificaron tres QTLs y en el cromosoma 9 solamente una región genómica.

En el cromosoma 1 se identificaron regiones genómicas asociadas a la senescencia (PHV, PES y TSP1) y al área foliar (AMH). En el cromosoma 2 se detectaron QTLs asociados a la senescencia, ÁNG, AP, LE y BIO. En el cromosoma 3 se observaron regiones que controlan la senescencia, NHT, ÁNG, días a floración y BIO. En el cromosoma 4 se identificaron QTLs asociados a ASI, AP, LE, LMH, NGP, PG e IC. En el cromosoma 5 los QTLs detectados controlan el ÁNG, LE, y PG. Las regiones genómicas identificadas en el cromosoma 6 están asociadas a AP y NGP. En el cromosoma 7 se identificaron QTLs asociados a senescencia, ÁNG, ASI, AP, LMH e IC. En el cromosoma 8 se observaron QTLs que controlan LMH, BIO, RGP, NGP y PG. En el cromosoma 9 se detectó un QTL asociado a días a floración y en el cromosoma 10 las regiones identificadas controlan la senescencia, LMH y NHT.

3.3.2. MAPEO MEDIANTE UN MODELO LINEAL MIXTO

Se identificaron 42 QTLs a través de ambientes asociados a los caracteres EA, ASI, AP, NHT, LE, ÁNG, IAF, LMH, AMH, PHV, PES, TSP1, TSP2, BIO, RGP, NGP y PG. No se detectaron regiones asociadas a los caracteres ES e IC. En la Tabla 30 se muestran los QTLs identificados mediante este método, con sus respectivas localizaciones cromosómicas y efectos aditivos.

Tabla 30: QTLs identificados para cada rasgo mediante el método de modelo lineal mixto.

QTL	F _{umbral}	F _{max}	Cr	Bin	Pos (cM)	IC	MMF	MMC	QTL-MMC(cM)	%VG	A
EA3	7,9	10,2	3	3.05	104,5	95,5-133,5	<i>bnlg1601-umc1400</i>	<i>bnlg1601</i>	9,0	7,0	1,03
EA9	7,9	11,2	9	9.03	59,4	56,4-60,4	<i>bnlg1626-umc1691</i>	<i>umc1691</i>	1,2	3,3	-0,62
ASI4	8,1	10,3	4	4.03	4,0	0,0-11,0	<i>umc2281-phi026</i>	<i>umc2281</i>	4,0	4,2	-0,46
ASI7a	8,1	12,2	7	7.04	25,7	18,7-34,7	<i>umc2330-bnlg2259</i>	<i>umc2330</i>	7,0	7,9	0,41
ASI7b	8,1	13,8	7	7.04-7.05	48,5	40,5-58,5	<i>bnlg2259-phi082</i>	<i>bnlg2259</i>	13,0	7,2	0,36
AP2	6,1	14,0	2	2.02	59,8	45,8-70,8	<i>bnlg1302-bnlg1064</i>	<i>bnlg1302</i>	28,0	1,2	9,95
AP4	6,1	10,8	4	4.09	86,4	82,4-94,4	<i>umc2138-umc1058</i>	<i>umc2138</i>	4,0	1,1	-4,74
AP6	6,1	6,5	6	6.07	148,2	141,2-148,2	<i>umc2323-bnlg1136</i>	<i>bnlg1136</i>	0,0	1,6	-3,84
AP7	6,1	10,3	7	7.04	33,7	26,7-35,5	<i>umc2330-bnlg2259</i>	<i>bnlg2259</i>	1,8	2,1	4,79
NHT1	6,2	8,6	1	1.08	178,2	172,2-184,2	<i>mmc0041-bnlg1671</i>	<i>mmc0041</i>	7,0	3,2	-0,38
NHT3	6,2	12,6	3	3.05-3.06	119,3	116,3-123,3	<i>umc1400-umc1266</i>	<i>umc1400</i>	3,0	7,0	0,52
LE3	6,4	7,8	3	3.05-3.06	118,3	116,3-122,3	<i>umc1400-umc1266</i>	<i>umc1266</i>	2,0	0,9	-0,36
LE4	6,4	8,6	4	4.03	1,0	0,0-7,0	<i>umc2281-phi026</i>	<i>umc2281</i>	1,0	1,2	-0,34
LE5	6,4	7,5	5	5.01	8,0	2,0-9,2	<i>bnlg1006-umc1523</i>	<i>umc1523</i>	1,2	1,6	0,29
LE7	6,4	7,3	7	7.04	33,7	24,7-35,5	<i>umc2330-bnlg2259</i>	<i>bnlg2259</i>	1,8	1,5	0,39
ÁNG2	6,3	8,6	2	2.03	73,8	58,8-97,4	<i>bnlg1302-bnlg1064</i>	<i>bnlg1064</i>	23,6	3,7	-3,09
ÁNG4	6,3	7,1	4	4.09	85,4	82,4-95,4	<i>umc2138-umc1058</i>	<i>umc2138</i>	3,0	3,3	-1,55
ÁNG5	6,3	10,7	5	5.06	85,5	82,5-86,4	<i>bnlg278-umc1680</i>	<i>umc1680</i>	0,9	3,9	1,63
ÁNG6	6,3	6,5	6	6.01	24,2	13,2-31,6	<i>bnlg161-bnlg426</i>	<i>bnlg426</i>	7,4	5,9	-2,85
ÁNG7a	6,3	22,5	7	7.04	23,7	18,7-27,7	<i>umc2330-bnlg2259</i>	<i>umc2330</i>	5,0	12,9	3,23
ÁNG7b	6,3	6,4	7	7.06	67,2	66,2-68,2	<i>umc2190-umc1799</i>	<i>umc2190</i>	1,0	1,2	-1,40

F_{umbral}: valor de la prueba F determinado mediante el test de 1000 permutaciones para considerar significativo un QTL; F_{max}: valor máximo del estadístico F para cada QTL; Cr: Cromosoma; Pos (cM): posición en la que se obtuvo el F_{max} para cada QTL; IC: intervalo de confianza; MMF: marcadores moleculares que flanquean el QTL; MMC: marcador molecular más cercano al pico de F_{max}; QTL-MMC (cM): distancia entre la posición del valor F_{max} y el marcador molecular más cercano; %VG: porcentaje de varianza genotípica explicada por el QTL; A: efecto aditivo con respecto al alelo del parental LP179; el nombre del QTL está formado por el nombre del carácter al cual está asociado, más el número de cromosoma en el cual se encuentra, seguido por una letra en el caso de que hubiese más de un QTL en un mismo cromosoma para un mismo carácter. EA: periodo emergencia-antesis; ASI: intervalo antesis-silking; AP: altura de planta; NHT: número de hojas totales; LE: longitud promedio de entrenudos; ÁNG: ángulo vertical de inserción foliar.

Continuación Tabla 30.

QTL	F _{umbral}	F _{max}	Cr	Bin	Pos (cM)	IC	MMF	MMC	QTL-MMC(cM)	%VG	A
<i>IAF2</i>	6,3	9,5	2	2.02	18,7	13,7-25,7	<i>bnlg1297-bnlg1302</i>	<i>bnlg1297</i>	5,0	2,9	0,17
<i>LMH10</i>	6,4	8,2	10	10.05	31,1	25,1-36,4	<i>phi050-umc1506</i>	<i>umc1506</i>	5,3	2,7	1,60
<i>AMH1</i>	6,1	10,8	1	1.11	192,6	188,6-198,0	<i>bnlg1671-phi120</i>	<i>phi120</i>	5,4	5,6	0,28
<i>AMH3</i>	6,1	6,9	3	3.04	55,7	42,7-69,7	<i>bnlg1325-bnlg602</i>	<i>bnlg602</i>	18,9	2,9	-0,31
<i>PHV1</i>	6,3	8,1	1	1.04	97,1	90,1-98,1	<i>umc2390-bnlg2086</i>	<i>bnlg2086</i>	1,0	3,5	1,93
<i>PHV7</i>	6,3	6,9	7	7.06	68,2	66,2-68,2	<i>umc2190-umc1799</i>	<i>umc1799</i>	0,6	2,3	1,81
<i>PHV10</i>	6,3	6,8	10	10.03	9,0	1,0-16,0	<i>bnlg1451-bnlg1079</i>	<i>bnlg1079</i>	8,4	2,3	2,04
<i>PES1</i>	6,3	8,7	1	1.04	97,1	91,1-98,1	<i>umc2390-bnlg2086</i>	<i>bnlg2086</i>	1,0	4,1	1,93
<i>PES3</i>	6,3	6,6	3	3.05	102,5	95,5-112,5	<i>bnlg1601-umc1400</i>	<i>bnlg1601</i>	7,0	5,0	3,33
<i>PES10</i>	6,3	7,9	10	10.05	46,4	36,4-56,4	<i>umc1506-bnlg2190</i>	<i>umc1506</i>	10,0	0,8	2,22
<i>TSP1-1</i>	6,1	6,6	1	1.04	93,1	86,1-98,1	<i>umc2390-bnlg2086</i>	<i>bnlg2086</i>	5,0	3,4	-0,0081
<i>TSP1-10</i>	6,1	11,1	10	10.05	41,4	36,4-50,4	<i>umc1506-bnlg2190</i>	<i>umc1506</i>	5,0	4,4	-0,0099
<i>TSP2-2</i>	6,1	9,5	2	2.02	19,7	13,7-26,7	<i>bnlg1297-bnlg1302</i>	<i>bnlg1297</i>	6,0	2,6	4,18
<i>BIO2</i>	6,2	9,2	2	2.02	59,8	37,8-73,8	<i>bnlg1302-bnlg1064</i>	<i>bnlg1302</i>	28,0	1,9	12,03
<i>BIO8</i>	6,2	10,6	8	8.06	67,8	62,9-75,8	<i>bnlg1782-bnlg1823</i>	<i>bnlg1782</i>	4,9	2,8	-6,98
<i>RGP2</i>	6,4	6,8	2	2.03	65,8	44,8-88,8	<i>bnlg1302-bnlg1064</i>	<i>bnlg1064</i>	31,6	1,4	6,52
<i>RGP8</i>	6,4	6,6	8	8.06	67,8	62,9-77,8	<i>bnlg1782-bnlg1823</i>	<i>bnlg1782</i>	4,9	2,4	-3,90
<i>NGP6</i>	6,3	7,6	6	6.01	31,2	21,2-31,6	<i>bnlg161-bnlg426</i>	<i>bnlg426</i>	0,4	2,6	-18,13
<i>PG4a</i>	6,3	6,4	4	4.03	1,0	0,0-7,0	<i>umc2281-phi026</i>	<i>umc2281</i>	1,0	2,6	-6,19
<i>PG4b</i>	6,3	9,3	4	4.08	70,5	61,5-78,5	<i>bnlg1444-umc2138</i>	<i>bnlg1444</i>	10,0	4,7	-9,81
<i>PG5</i>	6,3	6,5	5	5.07	97,4	89,4-102,1	<i>umc1680-bnlg2305</i>	<i>bnlg2305</i>	4,7	5,3	-10,25

IAF: índice de área foliar máximo en floración; LMH: longitud máxima de la hoja; AMH: ancho máximo de la hoja; PHV: persistencia de las hojas verdes en postfloración; PES: periodo emergencia-senescencia; TSP: tasa promedio de senescencia en postfloración; BIO: biomasa aérea en madurez fisiológica; RGP: rendimiento en grano por planta; NGP: número de granos por planta; PG: peso del grano.

Se detectaron QTLs en los diez cromosomas de maíz. El porcentaje de varianza genotípica de los QTLs individuales varió entre 0,8% (*PES10*) y 12,9% (*ÁNG7a*). Se observaron QTLs tanto con efecto aditivo positivo como negativo y los valores de F_{umbral} obtenidos mediante la prueba de 1000 permutaciones variaron entre 6,1 para AP, AMH, TSP1 y TSP2 y, 8,1 para ASI. Los valores de F_{max} que arrojaron los QTLs variaron entre 6,4 (*ÁNG7b* y *PG4a*) y 22,5 (*ÁNG7a*).

Para los caracteres EA y ASI se identificaron cinco QTLs, de los cuales dos estaban asociados a EA en los cromosomas 3 y 9 con un porcentaje de varianza genotípica de 10,3% y tres para ASI en los cromosomas 4 y 7 con un porcentaje de varianza de 19,3%. Mediante el método anterior se detectaron regiones en los mismos cromosomas pero en posiciones diferentes.

Se detectaron cuatro regiones asociadas a AP en los cromosomas 2, 4, 6 y 7, que en conjunto explicaron un 6,0% de la varianza genotípica. Se identificaron QTLs mediante el método CIM en estos cromosomas pero en localizaciones diferentes. Para NHT se identificaron dos QTLs en los cromosomas 1 y 3 que explicaron un 10,2% de la varianza genotípica. Con el método anterior, el QTL *NHT1* no fue detectado y las regiones localizadas en el cromosoma 3 se encuentran en posiciones cercanas con respecto a la región detectada con este método. Para LE se detectaron dos regiones genómicas en los cromosomas 4 y 5 cuyas posiciones son similares a las detectadas con el método CIM y, dos QTLs en los cromosomas 3 y 7 que no fueron previamente identificados con el método anterior. Para ÁNG se detectaron tres QTLs en los cromosomas 4, 6 y 7 que no fueron previamente identificados y tres regiones en los cromosomas 2, 5 y 7 cuyas localizaciones son similares a las identificadas previamente. En total los seis QTLs explicaron el 30,9% de la varianza genotípica.

Se identificó un QTL asociado a IAF en el cromosoma 2 con efecto aditivo positivo y una contribución a la heredabilidad de 2,9%. Para LMH se detectó un QTL en el cromosoma 10 con una heredabilidad de 2,7%, cuya localización es cercana a la de un QTL identificado con el método anterior. Para AMH se detectaron dos regiones genómicas en los cromosomas 1 y 3, de las cuales una coincide con un QTL detectado con el método CIM, pero la otra región no había sido identificada.

Se identificaron tres regiones genómicas asociadas a PHV en los cromosomas 1, 7 y 10, todas con efecto aditivo positivo y una contribución a la heredabilidad de 8,1%. Los primeros dos QTLs coinciden con los identificados mediante el método CIM. Para PES se detectaron tres QTLs en los cromosomas 1, 3 y 10, con efecto aditivo positivo y una heredabilidad de 9,9%. El QTL *PES1* se encuentra en la misma posición que el QTL *PHV1*. Para TSP1 se identificaron dos QTLs

en los cromosomas 1 y 10, todos con efecto aditivo negativo y una heredabilidad de 7,8%. El intervalo correspondiente al QTL *TSP1-1* se superpone con el de los QTLs *PES1* y *PHV1*. Además, el QTL *TSP1-10* se encuentra en el mismo intervalo que el QTL *PES10*. Para el carácter TSP2 se identificó un QTL en el cromosoma 2 con efecto aditivo positivo y una heredabilidad de 2,6%.

Se identificaron dos regiones genómicas asociadas a BIO en los cromosomas 2 y 8 con una contribución a la heredabilidad de 4,7%. Para RGP se detectaron dos QTLs en los cromosomas 2 y 8 que poseen una heredabilidad de 3,8%. El intervalo correspondiente al QTL *RGP2* coincide con el del QTL *BIO2*. A su vez, el QTL *RGP8* se encuentra en la misma posición que el QTL *BIO8*. Para NGP se detectó un QTL en el cromosoma 6 con efecto aditivo negativo y una heredabilidad de 2,6%. Para PG se identificaron tres regiones genómicas en los cromosomas 4 y 5, todos con efecto aditivo negativo y una heredabilidad de 12,6%.

En la Tabla 31 se muestran los QTLs que presentaron una interacción significativa con el ambiente.

Tabla 31: QTLs que mostraron interacción significativa con el ambiente.

QTL	Cr	Bin	Pos (cM)	AxE1	Valor p	AxE2	Valor p	AxE3	Valor p
<i>AP2</i>	2	2.02	59,8	-8,14	0,004	7,19	0,013	ns	0,728
<i>ASI7b</i>	7	7.04-7.05	48,5	0,38	0,022	nd	nd	-0,38	0,026
<i>BIO2</i>	2	2.02	59,8	ns	0,279	10,83	0,013	ns	0,147
<i>RGP2</i>	2	2.03	65,8	ns	0,368	6,23	0,035	ns	0,216
<i>PES10</i>	10	10.05	46,4	ns	0,698	ns	0,064	-2,08	0,021
<i>TSP1-10</i>	10	10.05	41,4	ns	0,601	-0,0074	0,02	ns	0,063

Cr: cromosoma; Pos (cM): posición donde el F_{max} arrojó el máximo valor; AxE1: efecto de la interacción aditivo x ambiente en el Exp1; AxE2: efecto de la interacción aditivo x ambiente en el Exp2; AxE3: efecto de la interacción aditivo x ambiente en el Exp3. Valor p: valor de probabilidad asociada del test estadístico para determinar la significancia de la interacción aditivo x ambiente; ns: no significativo; nd: no determinado.

El QTL *AP2* tuvo un efecto AxE negativo en el Exp1 y positivo en el Exp2 mientras que en el Exp3 el efecto de la interacción no fue significativo. El QTL *ASI7b* mostró una interacción positiva en el Exp1 y en el Exp3 una interacción negativa. El QTL *BIO2* al igual que *RGP2* mostró una interacción positiva en el Exp2 mientras que en los restantes ambientes la interacción no fue significativa. El QTL *PES10* tuvo una interacción negativa en el Exp3 solamente y el QTL *TSP1-10* mostró una interacción negativa en el Exp2 mientras que en los restantes ambientes no tuvo una interacción significativa.

En la Tabla 32 se muestran los pares de QTLs que mostraron una interacción epistática significativa.

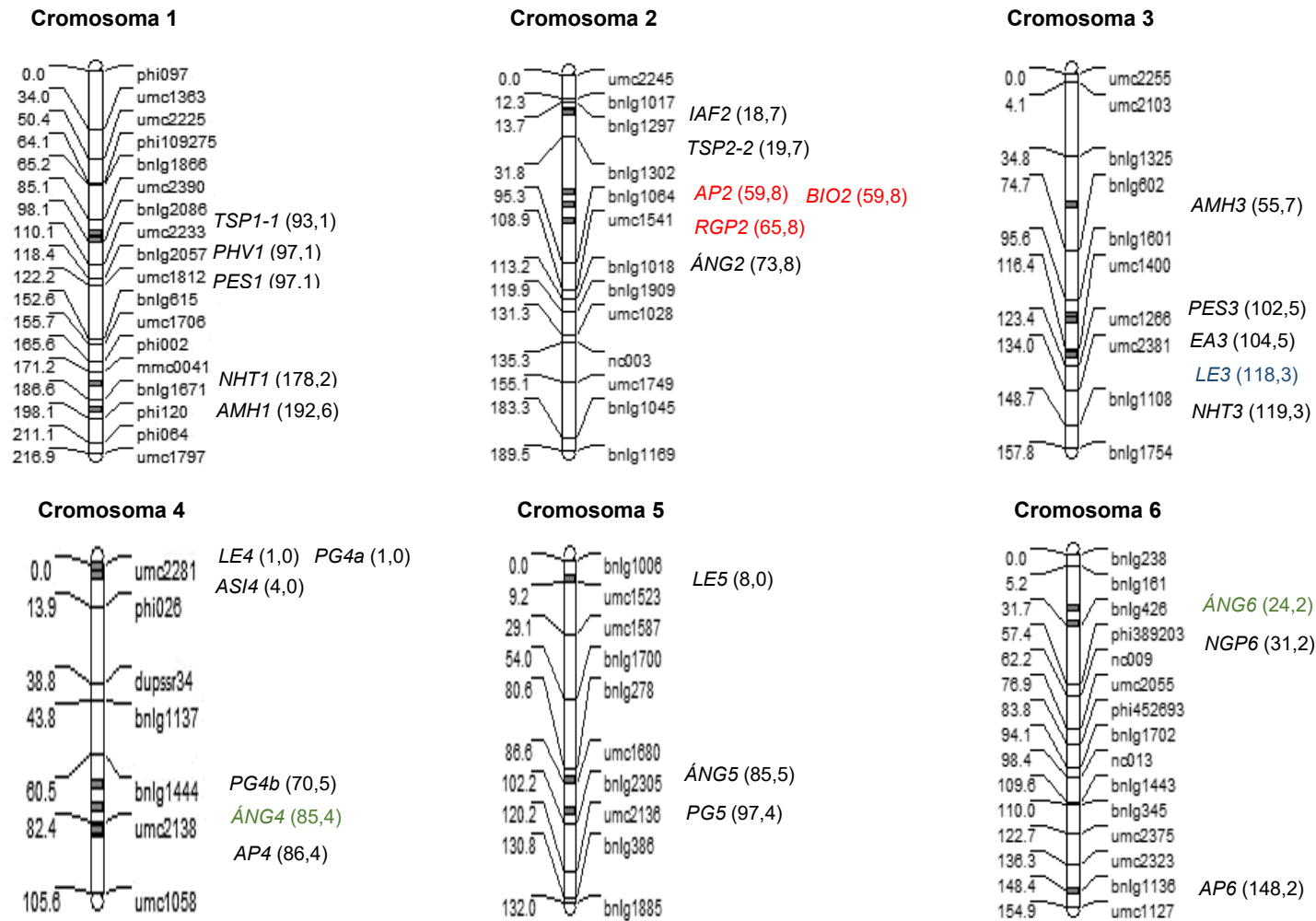
Tabla 32: Interacciones epistáticas entre pares de QTLs y magnitud de la misma.

QTL	Cr	Bin	Pos (cM)	AA	Valor p
ÁNG4	4	4.09	85,4	1,52	0,00038
ÁNG6	6	6.01	24,2		
LE3	3	3.05-3.06	118,3	0,25	0,00066
LE7	7	7.04	33,7		

Cr: cromosoma; Pos (cM): posición correspondiente al F_{max} para cada QTL. AA: efecto de la interacción epistática de tipo aditiva por aditiva. Valor p: valor de probabilidad asociada del test estadístico para determinar la significancia de la interacción.

Los dos QTLs asociados a *ÁNG* poseen un efecto aditivo individual negativo. Sin embargo, la interacción de tipo aditivo x aditivo entre ambos ocasionó un aumento en los valores medios de este atributo. Lo mismo ocurrió para los QTLs asociados con la *LE*. La interacción de tipo aditivo x aditivo produjo un aumento en los valores medios de este carácter, aunque en este caso los efectos aditivos individuales de estos QTLs eran opuestos. En la Figura 12 se muestran los QTLs identificados mediante este método con el programa QTL Network 2.0 en sus respectivas posiciones cromosómicas.

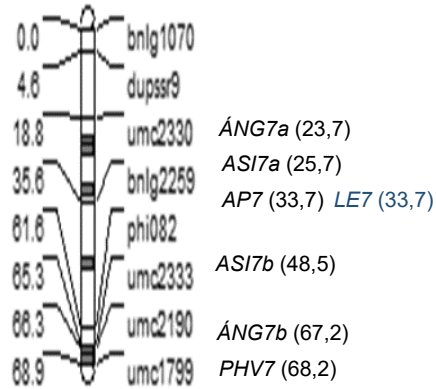
Figura 12: Ubicación de los QTLs detectados mediante el método de modelo lineal mixto.



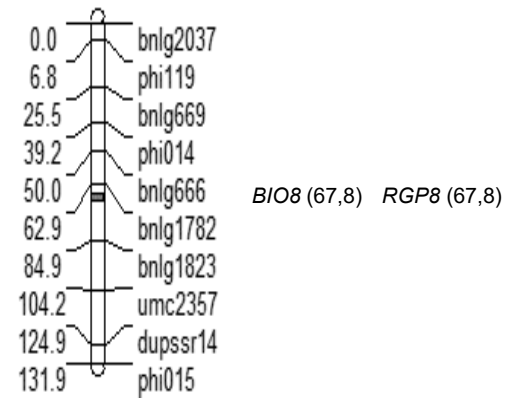
A la derecha de cada cromosoma se muestran los QTL y sus posiciones entre paréntesis; El color rojo corresponde a los QTL que mostraron interacción con el ambiente; Los colores azul y verde corresponden a los QTL que mostraron interacción epistática.

Continuación Figura 12.

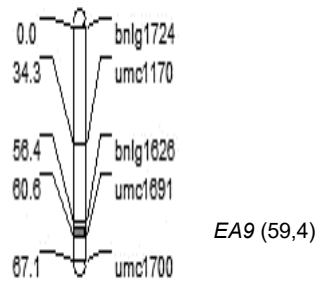
Cromosoma 7



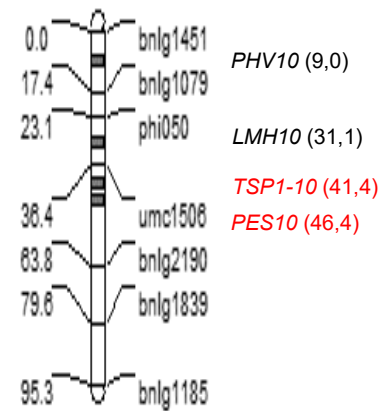
Cromosoma 8



Cromosoma 9



Cromosoma 10



A la derecha de cada cromosoma se muestran los QTL y sus posiciones entre paréntesis; El color rojo corresponde a los QTL que mostraron interacción con el ambiente; Los colores azul y verde corresponden a los QTL que mostraron interacción epistática.

En los cromosomas 7 y 4 se detectaron la mayor cantidad de QTLs con 7 y 6 regiones genómicas, respectivamente. En los cromosomas 1, 2 y 3 se detectaron cinco QTLs, en el cromosoma 10 cuatro QTLs, en los cromosomas 5 y 6 tres regiones genómicas, en el cromosoma 8 se detectaron dos QTLs, ambos en la misma posición y en el cromosoma 9 se identificó un QTL solamente.

En el cromosoma 1 se identificaron regiones genómicas asociadas a la senescencia (PHV, PES y TSP), al área foliar (AMH) y al NHT. En el cromosoma 2 se detectaron QTLs asociados a la senescencia, IAF, ÁNG, AP, BIO y RGP. En el cromosoma 3 se observaron regiones que controlan la senescencia, NHT, días a floración, LE y área foliar (AMH). En el cromosoma 4 se identificaron QTLs asociados a ASI, AP, LE, ÁNG y PG. En el cromosoma 5 los QTLs detectados controlan el ÁNG, LE, y PG. Las regiones genómicas identificadas en el cromosoma 6 están asociadas a AP, ÁNG y NGP. En el cromosoma 7 se identificaron QTLs asociados a senescencia, ÁNG, ASI y AP. En el cromosoma 8 se observaron QTLs que controlan la BIO y RGP. En el cromosoma 9 se detectó un QTL asociado a días a floración y en el cromosoma 10 las regiones identificadas controlan la senescencia y LMH.

3.3.3. MAPEO DE CARACTERES MÚLTIPLES

Para llevar a cabo este método se agruparon los caracteres de acuerdo a su función. En un grupo se incluyeron los rasgos AP-ÁNG-LE-NHT-LMH-AMH, asociados con la arquitectura de canopeo y la captura de luz. En otro grupo se analizaron los rasgos asociados a floración (EA-ES-ASI). En otro análisis se incluyeron conjuntamente los rasgos PHV-PES-TSP1-TSP2, asociados a la senescencia en postfloración. Luego se analizaron los caracteres IAF-LMH-AMH-BIO-RGP-IC, dado que IAF, LMH y AMH presentaron una correlación genotípica con BIO, para determinar el efecto de estos tres atributos sobre la producción de biomasa, el rendimiento y la partición, y en otro análisis se evaluaron los rasgos ES-ASI-PHV-BIO-RGP-IC, debido a que estos mostraron una correlación genotípica con BIO, RGP e IC.

En una primera etapa se realizó una búsqueda de QTLs mediante el procedimiento JZmapqtl del programa Win QTL Cartographer V 2.5, el cual realiza un análisis de caracteres múltiples mediante el método de mapeo por intervalo compuesto. En la Tabla 33 se muestran los QTLs identificados en la primera etapa mediante el método MT-CIM.

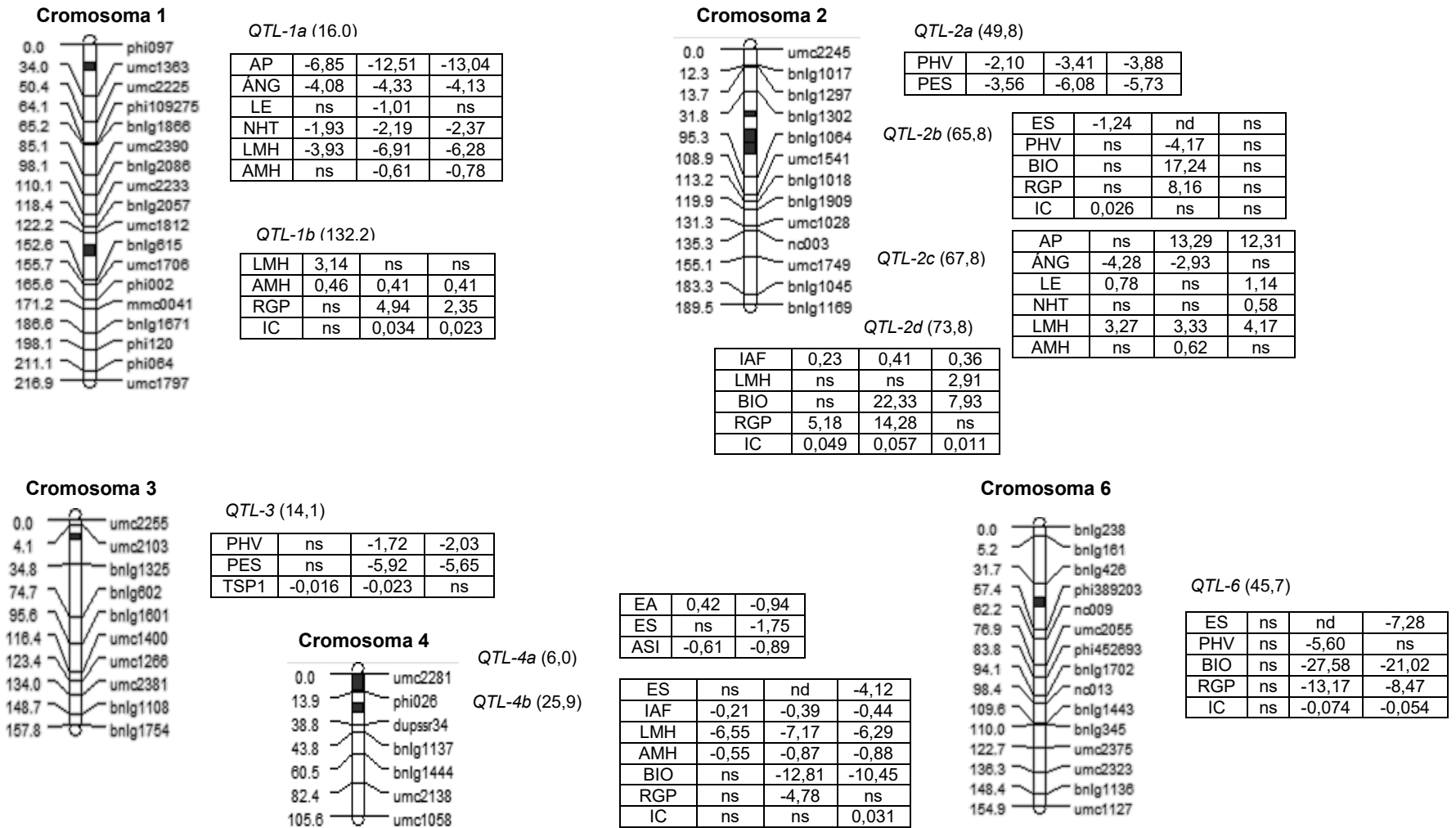
Tabla 33: QTLs identificados mediante el procedimiento JZmapqtl para caracteres múltiples.

QTL	Cr	Caracteres	LOD _{umbral}	LOD _{max}	Pos (cM)	IC	MMF
<i>QTL-1a</i>	1	AP-ÁNG-LE-NHT-LMH-AMH	16,8	17,2	16,0	12,0 – 18,0	<i>phi097-umc1363</i>
<i>QTL-1b</i>	1	IAF-LMH-AMH-BIO-RGP-IC	13,0	15,5	132,2	130,2- 138,2	<i>umc1812-bnlg615</i>
<i>QTL-2a</i>	2	PHV-PES-TSP1-TSP2	20,0	27,2	49,8	47,8 – 51,8	<i>bnlg1302-bnlg1064</i>
<i>QTL-2b</i>	2	ES-ASI-PHV-BIO-RGP-IC	13,0	13,7	65,8	63,8 – 67,8	<i>bnlg1302-bnlg1064</i>
<i>QTL-2c</i>	2	AP-ÁNG-LE-NHT-LMH-AMH	16,8	18,6	67,8	59,8 – 75,8	<i>bnlg1302-bnlg1064</i>
<i>QTL-2d</i>	2	IAF-LMH-AMH-BIO-RGP-IC	13,0	14,7	73,8	69,8 – 79,8	<i>bnlg1302-bnlg1064</i>
<i>QTL-3</i>	3	PHV-PES-TSP1-TSP2	20,0	32,7	14,1	12,1- 16,1	<i>umc2103-bnlg1325</i>
<i>QTL-4a</i>	4	EA-ES-ASI	4,7	5,7	6,0	0,0 – 13,9	<i>umc2281-phi026</i>
<i>QTL-4b</i>	4	IAF-LMH-AMH-BIO-RGP-IC	13,0	17,3	25,9	23,9 – 29,9	<i>phi026-dupssr34</i>
		ES-ASI-PHV-BIO-RGP-IC	13,0	13,2	25,9	21,9 – 29,9	<i>phi026-dupssr34</i>
<i>QTL-6</i>	6	ES-ASI-PHV-BIO-RGP-IC	13,0	13,1	45,7	43,7 – 49,7	<i>bnlg426-phi389203</i>

Cr: cromosoma; Caracteres: nombre de los caracteres para los cuales se detectó el QTL; LOD_{umbral}: valor de LOD determinado mediante el test de permutaciones o especificado arbitrariamente en el caso de que el test de permutaciones haya arrojado un valor demasiado elevado; LOD_{max}: valor de LOD máximo para el QTL; Pos (cM): Posición del LOD_{max}; IC: intervalo de confianza calculado como \pm una unidad de LOD hacia ambos lados de LOD_{max}; MMF: marcadores moleculares que flanquean al QTL. Cada QTL posee un número correspondiente al cromosoma en el cual se identificó. La letra luego del número se empleó para diferenciar los QTLs que se encuentran en los mismos cromosomas.

En la primera etapa se identificaron diez QTLs en los cromosomas 1, 2, 3, 4 y 6. Para el grupo de caracteres compuesto por AP-ÁNG-LE-NHT-LMH-AMH se detectaron dos QTLs en los cromosomas 1 y 2. Para los rasgos EA-ES-ASI se identificó un QTL en el cromosoma 4. Se detectaron dos regiones asociadas a los caracteres PHV-PES-TSP1-TSP2 en los cromosomas 2 y 3. Para el grupo de caracteres IAF-LMH-AMH-BIO-RGP-IC se detectaron tres regiones en los cromosomas 1, 2 y 4 y, para los rasgos ES-ASI-PHV-BIO-RGP-IC se identificaron tres QTLs en los cromosomas 2, 4 y 6. El QTL detectado en el cromosoma 4 para ambos grupos de caracteres se localizó en la misma posición. Los QTLs identificados en la primera etapa fueron considerados regiones candidatas y se analizaron en una segunda etapa mediante el método de mapeo por intervalos múltiples para múltiples caracteres (MT-MIM). Mediante este método se analizó la significancia de cada QTL sobre cada carácter, se estimaron los efectos aditivos de los mismos y se determinó el porcentaje de varianza fenotípica explicado por cada modelo de QTLs sobre cada carácter. En la Figura 13 se muestran los QTLs localizados en los cromosomas, los caracteres a los cuales está asociado cada QTL y los efectos aditivos de cada uno sobre cada carácter en cada ambiente.

Figura 13: Localización de los QTLs y sus efectos aditivos, identificados mediante análisis multi carácter.



A la derecha del cromosoma los marcadores moleculares; A la izquierda del cromosoma la posición de cada marcador; En cada tabla la primera columna hace referencia al nombre del carácter y las segunda, tercera y cuarta al efecto aditivo del QTL sobre el carácter en cada experimento; ns: no significativo.

En el cromosoma 4, los efectos aditivos asociados a los rasgos relacionados con la floración corresponden a los ensayos 1 y 3, debido a que en el Exp2 estos no fueron evaluados. La mayoría de los QTLs presentaron efectos aditivos significativos inconsistentes entre los experimentos. El *QTL-1a* fue uno de los más consistentes en cuanto a su expresión, dado que tuvo efecto sobre todos los caracteres en todos los experimentos, excepto sobre AMH, sobre el cual mostró un efecto significativo en los Exp2 y Exp3, y sobre LE, sobre el cual tuvo efecto en el Exp2 solamente. Todos los efectos aditivos fueron de signo negativo, indicando que la línea parental LP179 aportó alelos que disminuyen los valores medios de estos rasgos asociados con la captura de luz. El *QTL-1b*, asociado a IAF-LMH-AMH-BIO-RGP-IC, tuvo efecto sobre LMH en el Exp1, AMH en los tres ambientes y, sobre RGP e IC en el Exp2 y Exp3, no mostrando un efecto significativo sobre IAF y BIO. Los efectos aditivos de este QTL fueron todos positivos, por lo tanto el parental LP179 aportó los alelos que suman para los valores medios de área foliar y rendimiento. El *QTL-2a*, mostró un efecto significativo sobre PHV y PES en todos los ambientes, pero no tuvo significancia sobre los rasgos TSP1 y TSP2. Los efectos aditivos de este QTL fueron todos negativos. El *QTL-2b* presentó un efecto aditivo sobre ES e IC en el Exp1 y sobre PHV, BIO y RGP en el Exp2. Los efectos aditivos fueron negativos para ES y PHV y positivos para BIO, RGP e IC. El *QTL-2c* presentó un efecto significativo en los tres ambientes sobre LMH, solamente. Para los restantes caracteres fue inconsistente, dado que sobre AP tuvo efecto en los Exp2 y Exp3, sobre ÁNG en los Exp1 y Exp2, sobre LE en los Exp1 y Exp3, sobre NHT en el Exp3 y sobre AMH en el Exp2 solamente. Todos los efectos aditivos de este QTL fueron positivos, excepto para ÁNG. El *QTL-2d* mostró efecto sobre IAF e IC en los tres ambientes, sobre LMH en el Exp3, sobre BIO en los Exp2 y Exp3 y, sobre RGP en los Exp1 y Exp2, no mostrando un efecto significativo asociado al AMH. Todos los efectos aditivos fueron positivos. El *QTL-3* presentó un efecto significativo sobre PHV y PES en el Exp2 y Exp3, mientras que tuvo un efecto asociado a TSP1 en el Exp1 y Exp2 y no presentó efecto sobre TSP2. Todos los efectos aditivos fueron negativos. El *QTL-4a* presentó un efecto consistente sobre EA y ASI en los dos ambientes evaluados, pero sobre ES tuvo efecto en el Exp3 solamente. En este caso particular, este QTL tuvo un efecto aditivo positivo sobre EA en el Exp1 y negativo en el Exp3, lo cual estaría indicando que existió una interacción QTL x E. En el caso de los rasgos ES y ASI el efecto aditivo fue negativo. El *QTL-4b* presentó un efecto significativo sobre IAF, LMH y AMH en los tres ambientes. Sobre BIO tuvo efecto en el Exp2 y Exp3, sobre RGP en el Exp2 y sobre ES e IC en el Exp3. Todos los efectos fueron negativos, excepto sobre IC. El *QTL-6* fue significativo para ES en el Exp3, PHV en el Exp2, mientras que sobre BIO, RGP e IC tuvo efecto en el Exp2 y Exp3, siendo todos los efectos negativos. En la

Tabla 34 se muestra el porcentaje de varianza fenotípica explicado por el modelo de QTLs identificados para cada grupo de caracteres analizados.

Tabla 34: Porcentaje de varianza fenotípica explicado por cada modelo de QTLs.

Caracteres	Carácter/Experimento	Posición de QTLs	% σ^2_F
AP-ÁNG-LE-NHT-LMH-AMH	AP1	(1, 16,0)	7,1
	ÁNG1	(2, 67,8)	15,3
	LE1		9,2
	NHT1		12,9
	LMH1		9,5
	AMH1		3,8
	AP2		9,4
	ÁNG2		8,3
	LE2		7,3
	NHT2		9,6
	LMH2		9,0
	AMH2		7,1
	AP3		9,6
	ÁNG3		4,9
	LE3		7,9
	NHT3		13,0
	LMH3		9,8
AMH3		9,2	
EA-ES-ASI	EA1	(4, 6,0)	0,49
	ES1		0,12
	ASI1		2,6
	EA3		6,3
	ES3		18,5
	ASI3		8,7

El nombre del carácter está seguido por el número de experimento en el cual se evaluó: AP1: altura de planta evaluado en el Exp1; Posición de QTLs: entre paréntesis se mencionan los cromosomas y las posiciones de los QTLs identificados para esos caracteres; % σ^2_F : porcentaje de varianza fenotípica explicado por el QTL o los QTLs en el caso de que en el modelo hubiera más de un QTL asociado a los caracteres evaluados.

Continuación Tabla 34.

Caracteres	Carácter/Experimento	Posición de QTLs	% σ^2_F
IAF-LMH-AMH-BIO-RGP-IC	IAF1	(1, 132,2)	8,5
	LMH1	(2, 73,8)	41,0
	AMH1	(4, 25,9)	16,8
	BIO1		5,1
	RGP1		5,7
	IC1		6,3
	IAF2		14,6
	LMH2		44,5
	AMH2		26,6
	BIO2		17,8
	RGP2		14,2
	IC2		8,7
	IAF3		24,4
	LMH3		40,5
	AMH3		37,2
	BIO3		8,7
	RGP3		2,0
	IC3		2,8
PHV-PES-TSP1-TSP2	PHV1	(2, 49,8)	1,9
	PES1	(3, 14,1)	5,3
	TSP1-1		5,3
	TSP2-1		5,2
	PHV2		4,9
	PES2		22,7
	TSP1-2		11,3
	TSP2-2		8,6
	PHV3		9,4
	PES3		29,2
	TSP1-3		10,8
	TSP2-3		10,7

El nombre del carácter está seguido por el número de experimento en el cual se evaluó: BIO1: Biomasa en madurez fisiológica evaluado en el Exp1; Posición de QTLs: entre paréntesis se mencionan los cromosomas y las posiciones de los QTLs identificados para esos caracteres; % σ^2_F : porcentaje de varianza fenotípica explicado por el QTL o los QTLs en el caso de que en el modelo hubiera más de un QTL asociado a los caracteres evaluados.

Continuación Tabla 34.

Caracteres	Carácter/Experimento	Posición de QTLs	% σ^2_F
ES-ASI-PHV-BIO-RGP-IC	ES1	(2, 65,8)	11,4
	ASI1	(4, 25,9)	7,4
	PHV1	(6, 45,7)	11,6
	BIO1		6,8
	RGP1		3,3
	IC1		2,0
	PHV2		23,1
	BIO2		29,0
	RGP2		13,3
	IC2		8,0
	ES3		15,5
	ASI3		7,5
	PHV3		16,8
	BIO3		26,0
	RGP3		10,7
	IC3		10,5

El nombre del carácter está seguido por el número de experimento en el cual se evaluó: BIO1: Biomasa en madurez fisiológica evaluado en el Exp1; Posición de QTLs: entre paréntesis se mencionan los cromosomas y las posiciones de los QTLs identificados para esos caracteres; % σ^2_F : porcentaje de varianza fenotípica explicado por el QTL o los QTLs en el caso de que en el modelo hubiera más de un QTL asociado a los caracteres evaluados.

En el caso de los caracteres relacionados con la arquitectura del canopeo, el modelo compuesto por dos QTLs explicó un 15,3% de la variación fenotípica para el ÁNG en el Exp1. Este fue el mayor porcentaje explicado por el modelo, seguido por el carácter NHT en el Exp3 y en el Exp1, para los cuales explicó un 13,0% y 12,9%, respectivamente. El menor porcentaje de varianza fenotípica explicado fue para el rasgo AMH en el Exp1, con un 3,8%, un carácter sobre el cual ninguno de los dos QTLs tuvo un efecto significativo. El *QTL-4* asociado a los caracteres relacionados con la floración explicó un 18,5% y un 8,7% de la varianza fenotípica de los caracteres ES y ASI en el Exp3, respectivamente, debido a que este QTL presentó los mayores efectos aditivos sobre estos dos rasgos. El modelo de QTLs asociados a los caracteres IAF-LMH-AMH-BIO-RGP-IC explicó el mayor porcentaje de la varianza fenotípica sobre LMH, AMH e IAF, mientras que el menor porcentaje de la varianza fenotípica fue explicado para RGP e IC en el Exp3 debido a la baja magnitud de los efectos aditivos. El modelo de QTLs asociado a los rasgos ES-ASI-PHV-BIO-RGP-IC explicó el mayor porcentaje de varianza para BIO y PHV en el Exp2,

mientras que el menor porcentaje de varianza explicada fue para RGP e IC en el Exp1. Sobre RGP en el Exp1 ninguno de los QTLs presentó efecto significativo y sobre IC en el Exp1 un solo QTL tuvo efecto. En cuanto a los rasgos asociados con la senescencia en postfloración, el modelo compuesto por dos QTLs explicó el mayor porcentaje de varianza fenotípica para los rasgos PES en el Exp3 (29,2%) y Exp2 (22,7%), respectivamente. Ambos QTLs del modelo presentaron un efecto aditivo significativo sobre estos caracteres y la magnitud de los mismos fue muy significativa.

4. DISCUSIÓN

4.1. EVALUACIÓN GENOTÍPICA

El elevado porcentaje de polimorfismo entre las líneas parentales las hace útiles para realizar estudios de mapeo a partir de una población originada mediante el cruzamiento inicial entre estas. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Olmos *et al* (2010, 2014) quienes analizaron la estructura genética de las líneas de maíz de INTA Pergamino mediante el programa STRUCTURE V. 2.3.3.

La relación inversa entre el número de nucleótidos de las repeticiones y la cantidad de SSR observados para cada tipo de repetición también fue reportado por Sibov *et al* (2003) pero no por Chin *et al* (1996) quienes identificaron un mayor porcentaje de SSR de tipo trinucleótidos con respecto a los dinucleótidos. Con respecto al porcentaje de marcadores polimórficos, monomórficos y sin amplificación para cada tipo de repetición, los resultados coinciden con los observados por Sibov *et al* (2003) quienes concluyeron que la proporción de marcadores monomórficos para cada clase estaba directamente relacionado al tamaño de su unidad de repetición. El polimorfismo en los marcadores SSR surge como consecuencia de mutaciones que cambian el número de copias de las unidades de repetición. Se cree que estas mutaciones podrían ser generadas por una falla de la ADN polimerasa durante la replicación, conocida como *slippage* o deslizamiento (Schlöterer and Tautz, 1992). Además, la tasa de mutación varía entre microsatélites dependiendo de factores estructurales tales como el tamaño, el tipo y la composición de la repetición (Goldstein and Clark, 1995; Petes *et al.*, 1997) y se ha observado que las repeticiones de tipo dinucleótido poseen la mayor tasa de mutación, comparado con los trinucleótidos en los cuales dicha tasa es mayor a la de los tetranucleótidos (Chakraborty *et al.*, 1997). Por lo tanto, el hecho de que los marcadores dinucleótidos sean los más polimórficos y los penta/hexanucleótidos los menos variables afirma lo observado por Chakraborty *et al* (1997).

Las posibles causas de la distorsión en la segregación son factores fisiológicos y genéticos. Determinados mecanismos como la competencia del tubo polínico, polen letal, una fertilización preferencial y una eliminación selectiva de cigotos podrían ocasionar estas alteraciones en los radios de segregación (Zhang *et al.*, 2006). En maíz la causa más común podría surgir de un proceso de selección durante la gametogénesis, la fertilización o la germinación (Lyttle, 1991). Varios grupos de investigación han observado una segregación distorsiva de los marcadores mediante el estudio en poblaciones de mapeo (Gardiner *et al.*, 1993; Zhang *et al.*, 2006; Li *et al.*,

2016b). Una región de distorsión de la segregación es considerada cuando tres o más marcadores ligados presentan una distorsión significativa, dado que si un gen que produce este efecto está segregando en una población, los marcadores ligados a ese gen posiblemente muestren una segregación alejada de lo esperado (Vogl and Xu, 2000).

El porcentaje de marcadores con segregación distorsiva detectado en el presente trabajo fue elevado en comparación con otros reportes (Lu *et al.*, 2002; Yan *et al.*, 2003a; Sibov *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2012c; Li *et al.*, 2016b). Estos últimos autores observaron que las regiones con mayor presencia de segregación distorsiva poseían una tasa de recombinación baja y por el contrario las regiones con alta tasa de recombinación y alta densidad de genes tienden a poseer poca distorsión. Concluyeron en que la posible causa de esto es la expresión de una carga genética conservada, la cual tiende a acumularse en regiones de baja recombinación a través de alelos letales recesivos. En el presente trabajo se observaron cinco regiones en los cromosomas 1, 3, 5 y 6 (dos regiones) en las cuales los marcadores presentaron una segregación alejada de la esperada. En el cromosoma 1, en la región 1.00-1.03 los SSR presentaron una segregación con mayor proporción de individuos que amplificaron el alelo de la línea LP179. En las regiones 3.05-3.06, 5.04-5.06, 6.01-6.02 y 6.03-6.04 se observó una mayor proporción de individuos que amplificaron el alelo de la línea L5605. La región 5.04-5.06 identificada coincide con una región detectada por Zhang *et al* (2006), en la cual se encuentran genes gametofíticos indicando que posiblemente la causa sea la presencia de estos.

Los marcadores que presentaron distorsión en la segregación en el presente trabajo no fueron incluidos para la construcción del mapa de ligamiento, sin embargo algunos autores sugieren que estos no afectan la frecuencia de recombinación ni la precisión durante el mapeo de QTLs. Lorieux *et al* (1995) y Zhang *et al* (2006) indicaron que las estimaciones de las frecuencias de recombinación no son afectadas si la distorsión en la segregación es debido a un solo locus en una región de distorsión o a un solo factor gametofítico, pero si es causada en una región compuesta por más de un factor gametofítico, las estimaciones de las frecuencias de recombinación comienzan a ser sesgadas. Por lo tanto el empleo de regiones de distorsión de la segregación para estimar las distancias en un mapa de ligamiento depende del número de factores genéticos que la causan. Xu (2008) reportó que la presencia de marcadores distorsionados puede afectar el poder de detección de QTLs con efectos de dominancia pero no siempre puede afectar la precisión del mapeo de QTLs con efectos aditivos y observó que cuanto más denso sea el mapa de ligamiento construido es mínima la pérdida de precisión de mapeo.

La cobertura genómica alcanzada en el presente trabajo es menos amplia en comparación con la obtenida por otros grupos de investigación (Yan *et al.*, 2003b; Tang *et al.*, 2007; Ku *et al.*, 2010; Ku *et al.*, 2011; Zhu *et al.*, 2013). Esto es debido a que estos autores emplearon una mayor cantidad de marcadores para la construcción de los mapas de ligamiento, por lo tanto pudieron cubrir una mayor cantidad de bins con respecto al presente trabajo. Además, en los trabajos citados anteriormente, con excepción del trabajo efectuado por Yan *et al* (2003b), el hecho de haber empleado un mayor número de SSR dio como resultado una menor distancia promedio entre los mismos. En otros trabajos la cobertura genómica alcanzada fue similar a la obtenida en esta tesis (Li *et al.*, 2003b; Lu *et al.*, 2007; Guo *et al.*, 2008; Zheng *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2015), debido a que el número de SSR empleado por estos autores fue parecido, con la excepción de Chen *et al* (2015) quienes utilizaron 215 SSR para genotipar una población de 144 familias $F_{2:3}$ y obtuvieron una cobertura de 1153,39 cM, menor a la obtenida en nuestro trabajo, pero con una distancia promedio entre SSR de 5,44 cM, obteniendo de esta manera una menor cobertura genómica pero una mayor precisión a la hora de efectuar el mapeo de QTLs dado que los intervalos entre SSR adyacentes fueron menores.

En cuanto a la cobertura física alcanzada en cada cromosoma, como puede observarse en la Tabla 28, en base a las coordenadas en las que están localizados el primer y último SSR en cada cromosoma, en todos existen regiones en los extremos de los mismos por cubrir. Al sumar la cobertura física alcanzada en cada uno de los cromosomas, en total se mapearon 1800 Mpb aproximadamente. Dado que el genoma de maíz posee un tamaño de 2800 Mpb aproximadamente (Alexandrov *et al.*, 2009), se logró una cobertura física cercana al 65%.

Según Gardiner *et al* (1993) cada bin posee un tamaño de 20,0 cM y dado que el genoma de maíz está dividido en 100 bins, se espera que su tamaño aproximado sea de 2000,0 cM aproximadamente. Si la longitud física aproximada del genoma es de 2800 Mpb, la relación promedio entre la distancia genética y física sería aproximadamente de 0,7 cM.Mpb⁻¹. En el presente trabajo se observó una relación similar, dado que se obtuvo una cobertura genética de 1319,9 cM y una cobertura física de 1800 Mpb. Pan *et al* (2016) obtuvieron valores similares, comprendidos entre 0,81 cM.Mpb⁻¹ y 1,32 cM.Mpb⁻¹ con un promedio de 0,91 cM.Mpb⁻¹, en 12 poblaciones segregantes evaluadas con marcadores SNP. Pero esta relación no es uniforme debido a que la recombinación ocurre más frecuentemente en algunas regiones (*hot spots*) que en otras (*cold spots*). Fengler *et al* (2007) y Pan *et al* (2016) observaron que en las regiones cerca de los centrómeros la recombinación era menor con respecto a las regiones subtelo méricas y que la frecuencia de recombinación estaba correlacionada con la densidad de genes. En el presente

trabajo de tesis se observaron tres regiones que podrían corresponder a *hot spots* debido a que la relación entre la distancia genética obtenida y la distancia física fue mayor a la relación promedio y 11 regiones que podrían corresponder a *cold spots* dado que esta relación fue menor que la promedio (Tabla 29).

Rodgers-Melnick *et al* (2015) identificaron en algunas familias de maíz una región pericentromérica en el cromosoma 5, en las coordenadas 177,0-194,0 Mpb en la cual no existía *crossing-over*, es decir una región carente de recombinación. En nuestro trabajo, la región mencionada por estos autores está comprendida entre los SSR *bnlg1700* y *bnlg278* y la distancia física entre los mismo es de 165,5 Mpb pero la distancia genética es de 26,6 cM (Tabla 29). Por lo tanto, la baja relación entre la distancia genética y la distancia física entre estos SSR podría ser ocasionada por la presencia de la región mencionada por estos autores. Por otra parte, Pan *et al* (2016) identificaron una región en el cromosoma 10, en las coordenadas 147,0-148,9 Mpb, que mostraba una alta frecuencia de recombinación. En nuestro trabajo, esa región está comprendida entre los SSR *bnlg1839* y *bnlg1185*. La distancia genética obtenida entre estos fue de 15,7 cM y la distancia física es de 3,3 Mpb, existiendo una alta relación, la cual podría explicarse por la presencia de una región de alta recombinación en ese intervalo.

Algunos pares de marcadores presentaron un orden invertido de acuerdo con la localización física (Tabla 28). Las causas posibles de este orden invertido pueden ser errores durante el genotipado, el tamaño de la población y la segregación de los marcadores. Si el número de RILs evaluadas no es muy elevado no permite definir correctamente las posiciones y el orden de determinados pares de marcadores cuando la distancia física entre los mismos es pequeña, como en el caso de los SSR que presentaron un orden invertido en el presente trabajo. Además, si algún marcador muestra una segregación levemente alejada de la frecuencia esperada, esto podría ocasionar una imprecisión en el orden del mismo.

En el contexto actual en el que la mayoría de los trabajos sobre mapeo de QTLs se realizan empleando una elevada cantidad de marcadores moleculares, mediante el empleo de marcadores SNP, los cuales son muy abundantes y permiten obtener una gran cobertura física y genética, el número de SSR utilizado en el presente trabajo es limitado. Un bajo número de marcadores no permite obtener una cobertura amplia, como queda reflejado en el presente trabajo en el cual no se cubrieron todos los bins cromosómicos y, por lo tanto le resta poder de detección al método de mapeo. Además, los intervalos entre marcadores adyacentes son extensos y esto le resta precisión al método de mapeo. Por lo tanto, el presente trabajo debería

considerarse como un mapeo preliminar, para luego agregar más marcadores en las regiones en las que se detectaron QTLs, con el propósito de aumentar la precisión del método.

4.2. EVALUACIÓN FENOTÍPICA DE LA POBLACIÓN DE RILs

Los valores medios obtenidos para la población de RILs y sus líneas parentales durante los ensayos de evaluación fenotípica son similares a los obtenidos por otros grupos de trabajos. D'Andrea *et al* (2006, 2013) evaluaron un grupo de 12 líneas endocriadas en dos ambientes con baja y alta disponibilidad de nitrógeno. Con una densidad de siembra de 7 plantas.m⁻² obtuvieron valores de IAF comprendidos entre 2,4 y 4,3, en condiciones de alta disponibilidad de nitrógeno. En el presente trabajo, aunque se empleó una densidad de siembra mayor (9 plantas.m⁻²) se obtuvieron valores similares, tanto para la población de RILs como para las líneas parentales.

En cuanto a la interceptación de la radiación fotosintéticamente activa incidente, D'Andrea *et al* (2006, 2013) registraron valores en un rango comprendido entre 0,59 y 0,90. En el presente trabajo el valor medio de fRFAl de las RILs en el Exp1 (Tabla 7) fue inferior a los informados por estos autores debido a un bajo crecimiento de las mismas (Andrade *et al.*, 1996; Cárcova *et al.*, 2003) y en los dos ensayos siguientes los valores medios fueron mayores (Tablas 8 y 9) y similares a los citados anteriormente. Los valores reportados en esta tesis, al igual que los informados por D'Andrea *et al* (2006, 2013) muestran que en ningún caso las líneas evaluadas alcanzaron el IAF crítico, es decir cuando interceptan al menos el 95% de la radiación incidente, aun en condiciones controladas de riego como en los trabajos de D'Andrea *et al* (2006, 2013), aunque la densidad de siembra empleada por estos fue menor a la del presente trabajo.

Los valores medios de RGP obtenidos para la población de RILs y sus líneas parentales fueron similares a los informados por D'Andrea *et al* (2006, 2013, 2016), aunque estos autores obtuvieron valores máximos superiores, posiblemente debido a que las condiciones hídricas en sus experimentos fueron controladas. Esto también se refleja en el NGP reportado por estos autores. En 2016 obtuvieron un valor máximo de 558 granos.pl⁻¹, en 2006 un valor máximo de 568 granos.pl⁻¹ y en 2013, 388 granos.pl⁻¹, mayores a los de esta tesis. En cuanto al PG, los valores obtenidos por D'Andrea *et al* (2006, 2013, 2016) estuvieron comprendidos entre 175,0 y 324,0 mg.grano⁻¹ en 2006, entre 158,0 y 232,0 mg.grano⁻¹ en 2013 y 102,0 a 296,0 mg.grano⁻¹ en 2016. En el presente trabajo, los valores de PG obtenidos estuvieron dentro de un rango similar (Tablas 7, 8, 9 y 10).

En el Exp1 la PHV tuvo un valor promedio mayor en la población de RILs a los valores promedios obtenidos en los dos ensayos posteriores y cuanto mayor fueron los valores promedios de RGP y NGP menores fueron los valores promedios de PHV (Tablas 7, 8 y 9). Esto estaría indicando que el progreso de la senescencia en el periodo de postfloración está controlado por la relación fuente-destino. Cuanto mayor es la demanda de asimilados por parte de los destinos (granos en crecimiento), mayor es la tasa de senescencia foliar y por lo tanto la duración del área foliar verde será menor. Borrás *et al* (2003) estudiaron el progreso de la senescencia en el periodo de postfloración en híbridos y observaron que cuando restringían el número de granos fijados la tasa de senescencia en postfloración disminuía debido a una menor demanda de nitrógeno por parte de los granos. En el presente trabajo, en el Exp1 al existir un número menor de granos fijados con respecto a los dos ensayos posteriores, la demanda de asimilados por parte de los destinos fue menor y por lo tanto la senescencia progresó a una tasa más lenta en el periodo de postfloración dando como resultado un valor promedio alto de PHV. Un factor importante a tener en cuenta en el análisis de este carácter, es la unidad en la que se evaluó. Al expresar la PHV en el periodo de postfloración en “días”, las temperaturas medias durante el periodo de llenado de granos pudieron haber afectado la precisión en la medición de este dato. En el Exp1 los valores de temperatura media durante el periodo de postfloración fueron inferiores con respecto a los dos ensayos posteriores. Esta menor temperatura pudo haber prolongado el periodo de llenado de granos y por lo tanto la PHV. Por lo tanto, hubiese sido más apropiado expresar este carácter en “grados días” como unidad, porque de esta manera se anula el efecto de la variación de la temperatura media entre experimentos.

El comportamiento diferencial de las líneas parentales en cuanto a los valores medios arrojados para los rasgos asociados con la captura de luz, excepto en el Exp1, en el cual las condiciones ambientales fueron adversas y las líneas no mostraron un buen crecimiento vegetativo y no se diferenciaron significativamente para estos caracteres (Andrade *et al.*, 1996; Cárcova *et al.*, 2003), sugiere que estas fueron útiles para la construcción de una población con el objetivo de efectuar un mapeo genético orientado a identificar regiones genómicas asociadas con estos caracteres. No obstante, se observó segregación transgresiva en estos rasgos hacia ambos extremos de la distribución fenotípica, indicando que las mismas no son totalmente contrastantes.

Para los caracteres asociados con la senescencia en postfloración se observó una respuesta casi contrastante, siendo la línea LP179 la que presentó una mayor persistencia foliar verde en dicho periodo y por ende una menor tasa de senescencia. El hecho de que los parentales

muestran una respuesta contrastante para estos caracteres las hace óptimas para realizar estudios de mapeo, porque la línea LP179 siempre debería aportar los alelos que aumenten los valores medios de la persistencia foliar verde en postfloración y L5605 los alelos que disminuyan los valores medios.

En el presente trabajo, el método utilizado para analizar las segregaciones transgresivas fue el propuesto por Wolyn *et al* (2004) el cual tiene en cuenta el error estándar. Li *et al* (2013) definieron el fenómeno de segregación transgresiva cuando al menos el 10% de las RILs muestran valores que se encuentran por fuera del rango comprendido por las líneas parentales. Si en el presente trabajo se hubiese aplicado el criterio mencionado por estos autores se hubieran obtenido resultados similares (Figuras 2, 3 y 4).

Una de las posibles causas de que exista segregación transgresiva es la presencia de alelos que suman y restan para los valores medios de los caracteres en ambas líneas parentales y, como resultado de la segregación de estos, en la descendencia surgen variantes que poseen mayor número de alelos que suman en algunas líneas recombinantes y que restan en otras, dando como resultado genotipos superiores e inferiores a sus parentales (Rieseberg *et al.*, 1999). Además, dado que la frecuencia de recombinantes aumenta a medida que se incrementa el número de rondas de recombinación, el método SSD utilizado para la construcción de la población de RILs, es un método que permite generar una alta proporción de genotipos transgresivos (Kuczynska *et al.*, 2007).

Entre las causas de una baja h^2 en un carácter pueden mencionarse, la fuerte respuesta del mismo a las condiciones ambientales y errores durante el muestreo y la toma de datos. La primera de estas causas va a generar una elevada σ^2_{AxE} , mientras que errores en el fenotipado pueden dar como resultado una alta σ^2_e . El menor valor de h^2 obtenido para el carácter ASI (0,54) posiblemente se debe a el método empleado para evaluar el mismo, dado que al expresarlo en “días” como unidades, no se tiene en cuenta la variación de la temperatura entre los experimentos. En este caso hubiese sido más adecuado expresarlo en “grados días” y de esta manera se hubiesen corregido las variaciones de temperatura entre experimentos. Posiblemente esta haya sido la causa de la mayor σ^2_e con respecto a la σ^2_A para este rasgo (Tabla 19). En el caso de EA y ES, las heredabilidades fueron mayores con respecto a ASI posiblemente porque estos rasgo presentaron una menor respuesta al ambiente, dado que la relación entre la σ^2_A y la σ^2_{AxE} fue mayor para estos que para la asincronía floral. Además de ASI, los dos caracteres que presentaron menor h^2 fueron RGP (0,53) y NGP (0,54). Estos dos caracteres suelen estar sujetos a variaciones en las condiciones ambientales, como se ve reflejado en los valores de la σ^2_{AxE} , las

cuales fueron mayores que la σ^2_A . Además, la σ^2_e también fue mayor que la σ^2_A indicando que posiblemente el fenotipado de estos no fue muy preciso. Los mayores valores de h^2 obtenidos para ÁNG (0,87) y NHT (0,86), indica que estos caracteres, los cuales no dependen del crecimiento, suelen presentar una baja respuesta al ambiente, como se vio reflejado en los valores bajos de σ^2_{AxE} proporcionalmente con respecto a la σ^2_A . En el caso de AP, IAF, LMH y AMH, la σ^2_{AxE} fue muy baja en comparación con la σ^2_A , por lo tanto la respuesta al ambiente de estos atributos también fue baja, pero la σ^2_e fue mayor proporcionalmente con respecto a NHT y ÁNG y por eso tuvieron valores levemente menores de h^2 . El hecho de haber evaluado la población de RILs en tres ambientes también explica los valores altos de h^2 obtenidos, dado que para su estimación la σ^2_F es igual a la $\sigma^2_A + \sigma^2_{AxE}/a + \sigma^2_e/ar$, donde “a” es la media armónica del número de ambientes en los que se evaluaron los genotipos y “ar” la media armónica del número de repeticiones. Por lo tanto cuanto mayor sea el número de ambientes de evaluación menor será el denominador de la relación y además se obtendrá un mejor ajuste del error experimental. El empleo de medias armónicas se justifica por el hecho de que no todos los genotipos fueron evaluados en todos los ambientes y debido a que en el Exp2 se evaluó una única repetición. El hecho de haber evaluado una sola repetición en el Exp2 hace que el dato fenotípico obtenido para cada RIL sea menos preciso en comparación con los datos de los ensayos restantes, porque al evaluar una sola repetición no se puede ajustar el error experimental. Este es un factor a tener en cuenta a la hora de efectuar el mapeo de QTLs dado que la precisión del método de mapeo es muy dependiente de la calidad del dato fenotípico empleado.

Sari-Gorla *et al* (1999) obtuvieron valores de h^2 para EA (0,68), ES (0,58), ASI (0,40) y AP (0,69) levemente menores a los estimados en el presente trabajo, pero evaluaron una población de 142 RILs en un solo ambiente con dos réplicas. Mickelson *et al* (2002) obtuvieron un valor de h^2 para ÁNG de 0,71, menor al obtenido en esta tesis, en una población de 180 RILs evaluada en tres ambientes con dos réplicas. Tang *et al* (2007) utilizando 294 RILs F_8 evaluadas en tres ambientes con tres réplicas obtuvieron valores mayores de h^2 para AP (0,92), NHT (0,94) y LE (0,92). Cai *et al* (2012) utilizando 218 RILs F_8 evaluadas en dos ambientes obtuvieron valores de h^2 para RGP (0,36), AFM (0,49), LH (0,39), AH (0,56) inferiores a los determinados en el presente trabajo, pero para los caracteres ES (0,93) y ASI (0,88) registraron valores mayores. Zheng and Liu (2013a, 2013b) mediante el empleo de 239 RILs F_9 evaluadas en un ambiente con seis réplicas obtuvieron valores de 0,98 para AP, 0,98 para NHT, 0,97 para LH de la espiga y 0,96 para AH de la espiga. Guo *et al* (2015) y Cui *et al* (2017) registraron valores de h^2 asociados al AH (0,75 y 0,82) y al AFM (0,87) similares a los obtenidos en el presente trabajo. Zhou *et al* (2016)

estimaron la h^2 asociada a la AP en una población de RIL F_{11} evaluada en tres ambientes con tres réplicas y obtuvieron valores altos (0,93, 0,99 y 0,92), en cada uno de los ambientes. Por su parte, Li *et al* (2015) y Ku *et al* (2016) estimaron la h^2 asociada a ÁNG, LH y AH y obtuvieron valores menores (0,68 y 0,76 para ÁNG, 0,75 y 0,71 para LH y 0,63 y 0,72 para AH) a los registrados en el presente trabajo.

Las correlaciones genóticas son importantes para determinar el grado de asociación entre dos caracteres y son útiles si la selección indirecta da una mayor respuesta que la selección directa para un determinado carácter. Usualmente, el rendimiento es el rasgo primario de interés, pero debido a que este suele poseer valores bajos de heredabilidad, determinados caracteres de interés, u otros caracteres primarios suelen ser considerados en los programas de mejoramiento si la correlación de estos con el rendimiento es alta. La selección indirecta es la selección de un carácter primario con el propósito de obtener una respuesta positiva en otro carácter primario de interés. Una correlación genotípica alta entre los dos rasgos y una heredabilidad alta del carácter a seleccionar podrían proveer una ganancia genética del rasgo de interés en menos tiempo, si la respuesta correlacionada es mayor a la respuesta por selección directa del carácter primario de mayor importancia (Falconer and Mackay, 1996). Un carácter secundario difiere de uno primario en que los valores medios del primero no se intentan modificar y su importancia radica en agregar información a los méritos genéticos o al genotipo agregado (Baker, 1986). En cuanto a las causas de una correlación genotípica alta entre dos rasgos, la pleiotropía, es decir la presencia de genes que tienen efecto sobre más de un carácter y el ligamiento genético, son las causas principales de una correlación significativa. Esto último hace referencia a la presencia de genes, cada uno de los cuales tiene efecto sobre un carácter, pero que se encuentran cercanos físicamente y por lo tanto son heredados de manera conjunta durante la segregación (Hallauer *et al.*, 2010).

Teniendo en cuenta los resultados arrojados por las correlaciones fenotípicas, se observó que los genotipos que generaron una mayor tamaño del área foliar desplegado, los cuales alcanzaron mayores valores de IAF, debido a hojas de mayor área (LMH y AMH), con mayor número de hojas totales y mayor altura de planta, lograron interceptar un mayor porcentaje de la radiación incidente. La mayor intercepción de la radiación les permitió producir más fotosintatos destinados al crecimiento de las estructuras reproductivas durante el periodo crítico, posiblemente debido a una mayor tasa de crecimiento de las plantas. A su vez, esto favoreció el crecimiento de los estigmas disminuyendo la asincronía floral y favoreciendo una elevada polinización (Bolaños and Edmeades, 1996; Ribaut *et al.*, 1997; Li *et al.*, 2003b). Además, la probable mayor tasa de crecimiento de las plantas permitió fijar un mayor número de granos,

dando como resultado valores mayores de biomasa en madurez fisiológica y consecuentemente un mayor rendimiento. Estas observaciones coinciden con las informadas por otros grupos de investigación (Andrade *et al.*, 1996; Tollenaar and Lee, 2006; Cárcova *et al.*, 2003; Luque *et al.*, 2006). Una estrategia que surge a partir de los resultados obtenidos de las correlaciones es que para aumentar la producción de biomasa y con ello el rendimiento, sería factible aumentar el IAF, debido a la alta correlación genotípica entre estos, mediante un aumento de los atributos que lo determinan (LMH y AMH), los cuales también presentaron una correlación genotípica alta con BIO. Sin embargo, es importante tener en cuenta que al aumentar la LMH podría disminuir el IC (Tabla 20) y por lo tanto podría aumentar la BIO a través del IAF pero a la vez, disminuir el IC, sin generar un mayor rendimiento. En tal caso, sería más apropiado tratar de aumentar el IAF a partir del AMH, dado que no tiene un efecto negativo sobre el IC (Tabla 20) y de los dos componentes del IAF es el que mayor correlación presentó con el RGP. A su vez, también sería importante aumentar la producción de biomasa a través de un aumento en la persistencia foliar en postfloración, dado que tuvo una correlación genotípica no muy alta con BIO pero mayor con el IC (Tabla 20). Por lo tanto, se podrían aumentar ambos componentes del rendimiento (crecimiento y partición). Esto coincide con lo sugerido por Hammer *et al.* (2009) quienes afirmaron que los cambios en la arquitectura del canopeo tuvieron poco efecto directo sobre la acumulación final de biomasa, pero efectos indirectos importantes debido a la persistencia del área foliar y la mayor partición de carbohidratos a la espiga. De acuerdo a los resultados del análisis de sendero, el carácter más importante en la generación del rendimiento fue el IAF, porque tuvo el mayor efecto directo y todos los caracteres arquitecturales (excepto ÁNG) presentaron un efecto indirecto a través de este. El AMH fue el componente de IAF que presentó el mayor efecto directo y un efecto indirecto a través de este. Por lo tanto esto afirma lo antes mencionado en cuanto a que el AMH es el carácter más factible para mejorar el IAF, el cual presentó un leve efecto indirecto negativo a través del NHT, por lo tanto no sería conveniente aumentar el IAF a partir de un aumento en NHT. Un aumento en la cantidad de hojas genera una disminución en la LE y esto tiene un efecto negativo sobre la penetración de la luz, afectando la fotosíntesis de las hojas de los estratos medios e inferiores y por lo tanto la eficiencia en la utilización de la energía solar por parte de la planta completa (Ku *et al.*, 2015). De acuerdo al análisis de sendero empleando los rasgos que presentaron una correlación fenotípica con el RGP (Tabla 24), LE presentó un efecto directo positivo sobre este rasgo y un efecto indirecto negativo a través de AP. Esto sugiere que no es conveniente aumentar la LE a través de un aumento en la AP, algo que sería muy difícil de lograr dada la elevada correlación genotípica entre ambos. Además, IAF, LMH y AMH también

presentaron efectos indirectos via LE. De acuerdo a estos resultados, este atributo sería importante para tener en cuenta a la hora de mejorar el RGP, sin embargo, no presentó una correlación genotípica con BIO ni con RGP. Solamente mostró una leve correlación genotípica con PG (Tabla 20), la cual podría explicarse porque al aumentar la longitud de los entrenudos consecutivos que rodean a la espiga mejora la diferenciación de esta estructura reproductiva dando como resultado espigas de mayor tamaño con un mayor peso de los granos (Cao *et al.*, 2006). La presencia de dos regiones genómicas asociadas LE y PG en la misma posición (Tabla 30) estaría indicando que existe una asociación entre los mismos.

Es posible obtener una mayor ganancia por selección indirecta cuando la heredabilidad del carácter a seleccionar es mayor que la del carácter primario de interés y si la correlación genotípica entre ambos es de gran magnitud (Falconer, 1987). En nuestro trabajo, la predicción de la ganancia por selección indirecta en rendimiento resultó menor que la ganancia por selección directa porque las correlaciones que presentó este atributo con los restantes no fueron de gran magnitud (excepto NGP e IC) y la heredabilidad estimada para el mismo no fue baja (mayor a 0,5). La eficiencia de la selección indirecta suele ser superior cuando se combina una alta heredabilidad del carácter a seleccionar con una baja heredabilidad del rendimiento (carácter de mayor importancia), algo que usualmente ocurre en condiciones de estrés (Zimoyo and Bernardo, 2013). Por lo tanto, en el presente trabajo, no es conveniente emplear los atributos asociados a la arquitectura de canopeo, a floración y a senescencia, como caracteres primarios en un esquema de selección indirecta y debería evaluarse su posible utilidad como caracteres secundarios incorporados en un índice de selección, aspecto que está siendo considerado por fuera de los objetivos de esta tesis. Además, en dicho índice podría incorporarse la información obtenida a partir de los marcadores moleculares y combinarla con los datos fenotípicos, dado que la variancia explicada para cada carácter por los QTLs fue escasa y la combinación con los datos fenotípicos podría evitar la pérdida de información.

De acuerdo a los resultados obtenidos mediante el análisis de mapeo de caracteres múltiples, es posible que existan QTLs pleiotrópicos con efecto sobre los rasgos asociados con la arquitectura de canopeo (Figura 13). Estos QTLs podrían emplearse para modificar estos atributos, con el propósito de mejorar la eficiencia de intercepción de la radiación. En el caso del *QTL-1a* (Figura 14) debería seleccionarse la alternativa alélica, dado que LP179 aportó los alelos negativos. Sin embargo, el efecto aditivo para el carácter ÁNG debería ser opuesto, porque en condiciones de alta densidad de siembra, si se intenta obtener un IAF elevado, el ángulo vertical de inserción foliar debería ser erectófilo, principalmente en las hojas por encima de la espiga,

para permitir una mejor distribución de la luz a través de todos los estratos foliares. Por lo tanto, este QTL no sería útil para mejorar estos rasgos, al menos en condiciones de alta densidad de siembra, pero tal vez sí en condiciones de menor densidad. En cambio, el QTL-2c, si bien no posee efectos consistentes en todos los ambientes, podría emplearse para mejorar estos caracteres en altas densidades, dado que permitiría aumentar los valores de todos los atributos, excepto el ÁNG. Sin embargo, debería considerarse la factibilidad de emplear QTLs inconsistentes, porque este efecto obstaculiza la transferibilidad de los resultados (Bernardo, 2008). Además, se identificaron regiones genómicas que podrían emplearse para generar un aumento en la producción de BIO e IC y, por lo tanto del rendimiento, a partir de un aumento en el IAF y sus atributos componentes. El QTL-1b y el QTL-2d (Figura 13) podrían emplearse para aumentar los valores medios de LMH, AMH, IAF, BIO, IC y RGP, aunque sus efectos no fueron consistentes en todos los ambientes evaluados, mientras que en el caso del QTL-4b, debería emplearse la alternativa alélica para aumentar la LMH, AMH, IAF, BIO y RGP, pero a la vez se estaría aumentando el periodo ES y disminuiría el IC. Debido a la correlación negativa existente entre ES con BIO, RGP e IC (Tabla 20), no es conveniente prolongar el periodo a floración femenina.

La leve correlación fenotípica de PG con PHV, sugiere que una mayor persistencia foliar verde fotosintéticamente activa en el periodo de llenado de granos permite una mayor producción de fotoasimilados para el llenado de los mismos (Cirilo and Andrade, 1996; Borrás and Otegui, 2001). Por lo tanto, una mayor persistencia foliar verde tuvo un efecto sobre el rendimiento final, pero a través de un incremento en el peso del grano, el cual está correlacionado positivamente con este. Esta correlación también ha sido informada por Zheng *et al* (2009), quienes observaron además una correlación positiva de la persistencia foliar con el RGP. Chen *et al* (2013) y Kante *et al* (2016) también observaron una correlación significativa entre el carácter *stay green* con RGP y PG, respectivamente. Los QTLs asociados a PG detectados en los bins 4.03 y 4.08 coinciden con los informados por Mandolino *et al* (2016). El QTL identificado en el bin 4.05 por estos autores se encuentra ligado al marcador *phi026*, al igual que el detectado en el presente trabajo en el bin 4.03.

La aparente contradicción de las correlaciones positivas observadas de las tasas de senescencia (TSP1 y TSP2, según se expresen como número de hojas senescentes o área senescente, respectivamente), con la eficiencia de captura de radiación ($fRFAI_{max}$) y con la BIO e incluso con el RGP y sus componentes –NGP y PG- se explica a través de su correlación positiva, altamente significativa (Tabla 15, 16 y 17) con el tamaño del área foliar desplegado (IAF). Si bien

el área foliar senescida (en h.día^{-1} o $\text{cm}^2.\text{día}^{-1}$) fue mayor en los genotipos más foliosos, estos habrían conservado al mismo tiempo una mayor cantidad de área foliar verde remanente que habría explicado las correlaciones positivas mencionadas anteriormente.

La correlación positiva observada de AP con LE y NHT también fue informada por otros grupos de investigación (Allen *et al.*, 1973; Alves Lima *et al.*, 2006; Tang *et al.*, 2007; Nikolic *et al.*, 2011; Zheng and Liu 2013a; Zhu *et al.*, 2013). Los QTLs asociados a LE y AP localizados en la misma posición mediante el método de mapeo a través de un modelo lineal mixto (Tabla 30), y los QTLs identificados mediante el método MT-MIM (Figura 13), sugiere que la correlación genotípica elevada entre estos atributos podría ser explicada por la presencia de regiones genómicas en común. Estas últimas dos regiones mencionadas también podrían explicar la correlación entre AP y NHT. Esto coincide con lo informado por Zhou *et al* (2016), quienes identificaron un QTL pleiotrópico asociado a la altura de planta y el número de entrenudos (que posee una elevada correlación con el número de hojas) en el cromosoma 1. Ku *et al* (2010) determinaron una correlación positiva entre AP y LH, la cual fue observada también en el presente trabajo. Además se observó una correlación genotípica entre estos dos rasgos, lo cual sugiere que existe una asociación entre los mismos. La cercanía entre los QTLs *AP1-4* y *LMH1-4*, identificados mediante el método CIM (Tabla 29), y la presencia de dos QTLs detectados mediante el método MT-MIM, con efecto sobre ambos rasgos, podría explicar la correlación genotípica entre estos (Tabla 20). Las localizaciones de algunos QTLs asociados con AP coinciden con las informadas por varios grupos de investigación (Tang *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2007; Guo *et al.*, 2008; Ku *et al.*, 2010; Nikolic *et al.*, 2011). Las regiones genómicas asociadas a la LE en los bins 3.05-3.06 y 7.04 coinciden con las informadas por Tang *et al* (2007), quienes detectaron una región en el bin 3.05, mientras que Zhu *et al* (2013) identificaron una región en el bin 3.06. Estos autores además encontraron una interacción epistática importante que controlaba la variación del carácter y observaron muchos QTLs que presentaban interacción con el ambiente, aunque la contribución relativa de esta interacción era baja. Por su parte, Chen *et al* (2015) identificaron una región asociada a la longitud de los entrenudos por encima de la espiga en el bin 7.04, al igual que en el presente trabajo.

Li *et al* (2015) detectaron una correlación positiva entre EA y NHT, la cual fue observada en nuestro trabajo, indicando que los genotipos que logran diferenciar más primordios de hojas durante la fase vegetativa luego retrasan su floración con respecto a los que desarrollan un menor número de hojas. Debido al mayor número de hojas de los genotipos menos precoces, se observó una correlación elevada de EA con el IAF, tanto fenotípica como genotípicamente. La presencia

de QTLs en posiciones cercanas (posible ligamiento entre QTLs), detectados para EA y NHT mediante los métodos CIM y CIM a través de un modelo lineal mixto (Tabla 29 y 30), podría explicar la correlación genotípica entre estos caracteres. Esto coincide con lo informado por Li *et al* (2015), quienes identificaron QTLs con efecto pleiotrópico sobre EA y NHT, sugiriendo que ambos caracteres poseen un control genético moderadamente común.

McKee *et al* (1974), Alves Lima *et al* (2006), Guo *et al* (2008) y Nikolic *et al* (2011) observaron una correlación positiva entre AP y RGP. En nuestro trabajo se observó una leve correlación fenotípica entre estos rasgos con el dato promedio a través de ambientes. La causa más probable de esta asociación es el efecto que posee la AP sobre la producción de biomasa, un carácter altamente correlacionado con el RGP. Los genotipos de mayor altura generaron una mayor BIO y, la correlación inconsistente entre AP con RGP con respecto a la asociación con BIO se debe a la variación de los genotipos entre experimentos en cuanto a su capacidad para destinar asimilados para la producción de granos. La detección de QTLs asociados a AP y BIO en la misma posición, mediante los dos primeros métodos de mapeo empleados sugiere que posiblemente se trate de un QTL que posee efecto sobre la altura de planta, la cual genera una mayor producción de biomasa en madurez fisiológica.

Nikolic *et al* (2011) observaron una correlación positiva del RGP con AH. En el presente trabajo, RGP presentó una correlación positiva con AMH, posiblemente debido a que este rasgo es un componente del IAF, el cual está altamente correlacionado con BIO, al igual que la LMH. Algunas regiones genómicas asociadas a LMH en este trabajo colocalizaron con regiones informadas por otros autores (Cai *et al.*, 2012; Ku *et al.*, 2012). Raymond *et al* (2004) afirmaron que la longitud de la hoja posee las características de un carácter adaptativo, presentando una elevada interacción GxE y siendo inestables los QTLs que lo controlan y, que el efecto de estos factores se incrementaba cuando las condiciones ambientales diferían entre experimentos. En el presente trabajo se identificaron cinco QTLs para este carácter mediante el método MT-MIM, de los cuales tres mostraron expresión en los tres ambientes. Los dos QTLs restantes y los identificados mediante el método CIM fueron inconsistentes en su expresión. Por lo tanto se podría afirmar lo dicho por estos autores acerca de la inestabilidad en la expresión de los QTLs asociados a este atributo.

Dos regiones asociadas al AMH en los bins 1.10 y 1.11 fueron informadas por otros grupos de trabajo (Nikolic *et al.*, 2011; Zheng and Liu., 2013b). Además, Guo *et al* (2015) identificaron QTLs para ancho de la hoja en el cromosoma 1 en cuatro posiciones diferentes, de las cuales tres se superponen con intervalos detectados en el presente trabajo. Sería conveniente adicionar

más marcadores en dicha región para poder tener una mejor resolución. Estos autores además observaron que este carácter está controlado por QTLs estables a través de ambientes en conjunto con QTLs de efecto menor. Esto coincide con lo obtenido en nuestro trabajo, dado que tres de los cuatro QTLs detectados mediante MT-MIM mostraron expresión en más de un ambiente (Figura 13).

Las localizaciones de los QTLs asociados al IAF, en los bins 2.02, 2.03 y 4.05 fueron reportados previamente (Wang *et al.*, 2012b; Cai *et al.*, 2012; Zheng and Liu 2013b; Cui *et al.*, 2017), aunque en dichos trabajos no evaluaron precisamente el IAF sino el área foliar total por planta. Los últimos autores citados detectaron varios QTLs que presentaban interacción con el ambiente y muchos efectos epistáticos, indicando que los mecanismos genéticos que controlan el área foliar son parcialmente influenciados por el ambiente y que las interacciones epistáticas son importantes en la herencia de este carácter. En nuestro trabajo esto no fue observado, dado que los QTLs detectados mediante MT-MIM se expresaron en los tres ambientes y la región identificada mediante el método de mapeo siguiendo un modelo lineal mixto no presentó interacción QTL x E.

La correlación fenotípica negativa de ASI con EA y positiva con ES fue determinada también por Sari-Gorla *et al* (1999), Guo *et al* (2008) y Zheng *et al* (2009). La presencia de QTLs asociados a ES y ASI, detectados mediante CIM, en posiciones cercanas (Tabla 29), y la detección de un QTL pleiotrópico asociado a EA, ES y ASI, sugiere que podrían existir factores genéticos en común que controlan la floración masculina, femenina y consecuentemente la asincronía floral, la cual está determinada genéticamente, pero además es altamente influenciada por las condiciones ambientales. En un ambiente bajo un estrés hídrico (Exp1), en el cual la tasa de crecimiento de las plantas durante el periodo crítico fue muy baja, el crecimiento y la emergencia de los estigmas pudo haberse visto severamente afectado. Además, la competencia por los asimilados entre la panoja y la espiga pudo haber tenido un mayor efecto que en un ambiente sin estrés. Las regiones genómicas detectadas, asociadas al ASI, coinciden parcialmente con las informadas por diferentes grupos de investigación (Ribaut *et al.*, 2007; Szalma *et al.*, 2007; Guo *et al.*, 2008; Hao *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2010; Cai *et al.*, 2012) quienes identificaron QTLs asociados a este atributo en el cromosoma 4 y en el cromosoma 7, aunque no exactamente en las mismas posiciones.

La correlación genotípica negativa observada entre ES e IC, podría explicarse a partir de una mayor asincronía floral de los genotipos que tardaron más días en alcanzar la floración femenina. La mayor asincronía floral dio como resultado un menor NGP y por ende menor RGP,

el cual está altamente correlacionado con el IC. Los QTLs identificados para estos rasgos mediante el método MT-MIM fueron inconsistentes en cuanto a su expresión a través de ambientes y no sería apropiado emplearlos con el propósito de efectuar selección asistida por marcadores. El *QTL-2b* (bin 2.03) tuvo efecto sobre ES e IC en el Exp1 solamente y el *QTL-4b* en el Exp3, mientras que en el caso del *QTL-6* (bin 6.01), debería seleccionarse en contra del parental LP179, para aumentar los valores medios de BIO, IC y RGP, pero a la vez se estaría aumentando el periodo ES. Las localizaciones de estos QTLs coinciden con las informadas por Guo *et al* (2008) quienes reportaron la presencia de un QTL asociado a ES en el bin 2.03, mientras que Zheng *et al* (2012) identificaron un QTL asociado a este atributo en el bin 6.01. Por su parte, Cai *et al* (2012) detectaron regiones genómicas asociadas a los días a floración en los bins 2.03-2.04.

La elevada correlación genotípica negativa observada entre ASI y TSP2 podría ser una consecuencia de que la asincronía floral alta da como resultado un menor número de granos fijados. Por lo tanto, al existir una menor demanda de asimilados por parte de los destinos en postfloración la tasa de senescencia foliar disminuye. A su vez, ASI tuvo una correlación genotípica negativa elevada con BIO, posiblemente debido a un menor NGP fijados y menor RGP, ambos altamente correlacionados con BIO. A su vez, ASI presentó también una correlación genotípica negativa con PG. Una asincronía floral extensa generalmente se debe a una tasa de crecimiento baja durante el periodo crítico, momento en el que se determina el peso potencial de los granos (Severini *et al.*, 2011) y esa tasa de crecimiento baja pudo haber determinado un peso potencial bajo de los granos fijados, dado que tiene un efecto sobre la disponibilidad de asimilados por grano durante la fase *lag* al inicio del periodo de llenado (Gambín *et al.*, 2006, 2008).

El efecto de un ángulo de inserción foliar erectófilo es más pronunciado cuando el canopeo ha alcanzado un índice de área foliar alto. Con bajos valores de IAF, la tasa de crecimiento es mayor en canopeos planófilos, debido a que en estas condiciones la capacidad de intercepción es más importante que la distribución de la luz dentro del canopeo para maximizar la eficiencia en el uso de la radiación, y una mayor intercepción se traduce en un mayor crecimiento. Pero con un índice de área foliar alto, cuando la intercepción es casi completa, el crecimiento es mayor en canopeos erectófilos debido a que la radiación se distribuye más eficientemente, resultando en un mayor aprovechamiento de la fuente fotosintética (Hammer *et al.*, 2009). En el presente trabajo, la ausencia de un efecto de este carácter sobre el crecimiento (Biomasa en madurez fisiológica) podría deberse a que este no tuvo una incidencia en la intercepción de luz. Posiblemente el ángulo evaluado en este trabajo (formado por la lámina de la hoja con el tallo)

no posee un efecto marcado sobre la intercepción, como si lo tendría el valor de orientación de la hoja, el cual depende de la distancia de la inserción de la hoja al punto de quiebre de la misma (Ku *et al.*, 2010). En líneas endocriadas, en las cuales la intercepción no llega a ser del 95% debido a su menor crecimiento con respecto a los híbridos, posiblemente el efecto del ángulo de inserción foliar no sea importante sobre la producción final de BIO, pero igualmente se debería haber obtenido una correlación positiva de este rasgo con la intercepción de radiación, dado que los genotipos más planofilos deberían haber interceptado un mayor porcentaje de radiación incidente, y sin embargo esta asociación solamente se observó con el empleo del dato fenotípico promedio de los tres ambientes, siendo bajo el coeficiente de correlación obtenido. Para este carácter, mediante el método CIM se identificó un QTL en cada uno de los experimentos, en la misma posición (Tabla 29), los cuales podrían corresponder a un mismo QTL con expresión estable a través de los tres ambientes. Además, en el Exp3 se localizó otro QTL en el cromosoma 7, en una posición cercana a los anteriores. Por lo tanto, sería conveniente cubrir dicha región genómica con un mayor número de marcadores para obtener una mejor resolución de mapeo. Esta región también fue detectada mediante el método de mapeo a través de un modelo lineal mixto, por lo tanto, la estabilidad en la expresión de este QTL hace que pueda llegar a emplearse en un programa de selección asistida por marcadores para modificar los valores medios del ángulo de inserción foliar. Algunas regiones genómicas detectadas para este rasgo coinciden con las reportadas por Mickelson *et al* (2002), quienes identificaron QTLs asociados a este atributo en los bins 2.02, 2.03, 5.06 y 6.01, mientras que Lu *et al* (2007) detectaron regiones en los bins 2.02 y 3.06. Por su parte, Ku *et al* (2012) identificaron QTLs asociados a este rasgo en los bins 2.02, 5.06 y 7.04. En la región 2.02 estaba comprendido el gen *Ig1*, en un intervalo entre los marcadores *umc1165* y *bnlg1297*. En nuestro trabajo se identificó un QTL asociado a ÁNG en el cromosoma 2, en el Exp1, en el intervalo comprendido por los marcadores *bnlg1297* y *bnlg1302*, pero más cercano a este último. Chen *et al* (2015) también identificaron una región genómica asociada a este rasgo en el bin 2.02, mientras que Ding *et al* (2015) detectaron QTLs en los bins 2.02, 7.03 y 7.04. El QTL identificado en el bin 7.03 se encontraba ligado al marcador *dupssr9* y en nuestro trabajo el QTL detectado en el bin 7.04 se encuentra comprendido en el intervalo formado por los marcadores *dupssr9* y *umc2330*, pero más cercano a este último.

Al igual que para el carácter ÁNG, para NHT se identificaron QTLs en cada uno de los experimentos que podrían corresponder a un mismo QTL con estabilidad en su expresión en los tres ambientes (Tabla 29). Debido a que estos dos atributos no presentaron una gran interacción con el ambiente, es más probable identificar algún QTL con expresión estable en más de un

experimento. Algunos QTLs asociados al NHT se localizaron en regiones que coinciden o son adyacentes con las regiones detectadas por otros grupos de investigación (Tang *et al.*, 2007; Nikolic *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2012b; Zheng and Liu, 2013a; Zhou *et al.*, 2016). Li *et al* (2015) detectaron 20 QTLs asociados a NHT pero ninguno explicaba más del 10% de la variación fenotípica y concluyeron que este rasgo estaba controlado por muchos QTLs de efecto menor. Además observaron que el número de hojas por encima y por debajo de la espiga se encuentra bajo un control genético independiente debido a que identificaron solo tres QTLs pleiotrópicos.

Para LMH se localizaron dos QTLs en diferentes experimentos en el mismo bin (Tabla 29), sugiriendo que esa region (10.03) podría ser importante para el control de este rasgo. La localización de este QTL coincide con lo informada por Cai *et al* (2012).

Los QTLs *PHV1-1* y *PHV3-1*, localizados en regiones diferentes, indican que el cromosoma 1 parece ser importante para el control de la senescencia, al igual que el cromosoma 7, en el cual se detectaron tres QTLs en posiciones muy cercanas y en intervalos sucesivos que poseen el mismo efecto aditivo positivo. Ambas regiones fueron también identificadas mediante el método de mapeo siguiendo un modelo lineal mixto. Todos los QTLs asociados a PHV, PES y TSP1 se localizaron en la misma posición o compartiendo el mismo intervalo (Tabla 30), posiblemente debido a la alta asociación que poseen. Además, mediante el método MT-MIM se detectaron dos regiones con efecto pleiotrópico (Figura 13). Esto sugiere que ambos atributos están controlados por elementos genéticos comunes. Las dos regiones identificadas mediante el método MT-MIM (*QTL-2b* y *QTL-6*) indican que existe una asociación entre PHV con la producción de biomasa y el rendimiento. El primero de estos QTLs, dada la inconsistencia en su expresión, no sería apropiado emplearlo para aumentar la producción de BIO y el RGP a partir de la PHV y el segundo QTL también fue inconsistente, pero en este caso, seleccionando la alternativa alélica se podría aumentar la BIO, el IC y el RGP a partir de un aumento en la PHV (Figura 13). Algunos de los QTLs detectados para los caracteres PHV, PES, TSP1 y TSP2 coinciden con regiones previamente reportadas. Zheng *et al* (2009) identificaron regiones genómicas asociadas al área foliar relativo en postfloración en los bins 1.04 y 1.06. El QTL detectado por estos autores en el bin 1.04 se encontraba ligado al SSR *umc2390*, al igual que el identificado en nuestro trabajo para los caracteres PHV, PES y TSP1. Por su parte, Wang *et al* (2012b) identificaron QTLs asociados a estos rasgos en los bins 1.04 y 6.01. Belicuas *et al* (2014) identificaron QTLs en los bins 1.06, 2.02 y 6.01 y el QTL detectado por estos autores en el bin 1.06 se encuentra ligado al SSR *bnlg2057*, al igual que el identificado en el presente trabajo para PHV. Kante *et al* (2016) informaron que los QTLs que controlan este carácter no se encuentran en todo el genoma sino

agrupados en pocas cromosomas, y señalaron la región 1.06 – 1.08, en la cual identificaron varios QTLs agrupados. Trachsel *et al* (2016) también detectaron QTLs asociados a este rasgo en el cromosoma 1 y en el bin 2.02, al igual que en esta tesis.

La inconsistencia en la expresión de los QTLs se debe posiblemente al efecto de la interacción genotipo x ambiente, la cual hace que algunos genotipos se comporten de manera diferencial en determinados ambientes. Sin embargo, en algunos casos la detección de un QTL en un ambiente pero no en otro se debe simplemente a que un ambiente posee una varianza del error alta lo cual evita la detección de un determinado QTL en el mismo (Bernardo, 2008). En nuestro trabajo, el hecho de haber evaluado una sola repetición en el Exp2, pudo haber tenido un efecto sobre el poder de detección, dado que la precisión de los datos obtenidos fue menor, al obtener el dato fenotípico de cada RIL a partir de tres plantas evaluadas, mientras que en los restantes ensayos se obtuvo a partir de seis.

Algunos autores consideran a los QTLs de efecto mayor cuando explican más del 10% de la variación fenotípica del carácter y de efecto menor cuando explican menos del 10% (Collard *et al.*, 2005). Sin embargo otros autores consideran que los QTLs de efecto mayor son los que presentan una expresión estable a través de ambientes mientras que los de efecto menor son más sensibles a las variaciones ambientales (Li *et al.*, 2001). Por su parte, Grandillo *et al* (1999) afirman que los QTLs que poseen mayor contribución a la varianza fenotípica total del carácter son comúnmente detectados a través de diferentes ambientes. En el presente trabajo, los QTLs detectados mediante el método CIM que mostraron expresión en más de un ambiente, presentaron un valor de R^2 comprendido entre 9,8% y 13,8% y los QTLs que presentaron los valores mayores de R^2 no mostraron una consistencia en cuanto a su expresión (Tabla 29). Por lo tanto, en el presente trabajo la afirmación de Grandillo *et al* (1999) no se pudo comprobar, debido a que los QTLs que realizaron una mayor contribución a la varianza fenotípica no se detectaron en más de un ambiente.

Según Knapp *et al* (1990) el empleo de los valores medios de los caracteres a través de ambientes reduce el error estándar e incrementa la precisión y el poder de detección del mapeo de QTLs. Al emplear el método de mapeo siguiendo un modelo lineal mixto el número de QTLs localizados fue menor con respecto al método CIM, posiblemente debido a que solamente se detectaron los QTLs de mayor efecto y más estables. Igualmente las localizaciones de algunos QTLs coinciden o están muy próximas a las de algunos QTLs identificados mediante el método CIM para un mismo carácter (Tabla 29 y 30).

Las pocas interacciones epistáticas detectadas para los rasgos asociados con la arquitectura de canopeo confirma lo reportado por Tian *et al* (2011), quienes no observaron epistasis significativa en el control de la variación de estos atributos. Estos autores también observaron que aunque muchos QTLs detectados para caracteres asociados a arquitectura foliar presentaban interacción con el ambiente, sus efectos eran menores a los efectos principales. En el presente trabajo, los efectos de la interacción QTL x E fueron similares o levemente menores a los efectos principales de esos QTLs, aunque solamente 6 de los 42 QTLs identificados presentaron interacción significativa (Tabla 31). Li *et al* (2003a) mencionaron tres causas posibles de la interacción QTL x E, que un QTL se exprese en un ambiente pero no en otro, que el QTL se exprese fuertemente en un ambiente y débilmente en otro y que el efecto del QTL sea opuesto en un ambiente y otro. En el presente trabajo, los QTLs *AP2* y *AS17b* tuvieron un efecto A x E positivo en un ambiente y negativo en otro, mientras que los QTLs *BIO2*, *RGP2*, *PES10* y *TSP1-10* mostraron un efecto A x E significativo en un ambiente solamente, indicando que esos QTLs se expresaron en un ambiente solamente.

Según Tuberosa *et al* (2002), la colocación de QTLs que tienen efecto sobre dos o más caracteres puede deberse a la presencia de dos QTLs ligados que modulan la expresión de caracteres diferentes pero que no pueden ser separados por el test estadístico (ligamento), a la presencia de un QTL con una determinada función la cual lleva a una secuencia de eventos causalmente (pleiotropía), a la presencia de un QTL que posee efecto sobre dos caracteres independientemente uno del otro (pleiotropía) y a la presencia de dos QTLs ligados, ambos con efecto sobre los mismos dos caracteres (ligamiento y pleiotropía). En el caso de que exista ligamiento, puede distinguirse de la pleiotropía mediante una mejor resolución del método de mapeo. En esta tesis, debido a la cantidad de marcadores empleados, estas hipótesis mencionadas por Tuberosa *et al* (2002) no pudieron ponerse a prueba. El método MT-MIM asume la existencia de pleiotropía en el control genético de dos o más caracteres simultáneamente. Pero debido a que los intervalos entre marcadores adyacentes en este trabajo fueron extensos, no se podría determinar si la presencia de una región asociada a más de un carácter es un QTL pleiotrópico o QTLs ligados. Por lo tanto, el paso siguiente en una próxima etapa de trabajo sería saturar con una mayor cantidad de marcadores las regiones identificadas en la presente tesis para obtener una mejor resolución de mapeo. Esto otorgaría una ventaja a la hora de efectuar una búsqueda de genes candidatos en esas regiones, dado que al acortar los intervalos la búsqueda se estaría efectuando en regiones más particulares y a su vez otorgaría una mayor precisión a la hora de efectuar una selección asistida por marcadores moleculares.

5. CONCLUSIONES

En este trabajo, la evaluación de una nueva población de mapeo generada a partir de germoplasma local, genéticamente distante de las poblaciones reportadas en la literatura permitió obtener nueva información fenotípica y genotípica referida a la variación de los caracteres asociados con la captura de luz, los cuales se caracterizan por poseer una alta complejidad en cuanto a su evaluación y a la arquitectura genética que los controla. Los resultados obtenidos representan un avance en la genética de maíz y aportan herramientas para el mejoramiento de este cultivo.

La población de RILs evaluada presentó variabilidad genotípica y de interacción genotipo x ambiente significativas para todos los caracteres asociados a la captura de radiación solar, indicando que los genotipos respondieron de manera diferente a cambios de ambientes. Sin embargo, su capacidad de intercepción no se modificó entre los diferentes experimentos dado que el efecto de la interacción G x E para el atributo $fRFAI_{max}$ no fue significativo. El hecho de que existiera variabilidad genotípica para los caracteres evaluados hizo posible la identificación de regiones genómicas asociadas a los mismos.

Para casi todos los caracteres existió segregación transgresiva de un determinado grupo de RILs con respecto a las líneas parentales, lo cual demuestra que estas últimas no poseen un comportamiento contrastante, aunque mostraron diferencias significativas para los caracteres asociados a la captación de luz, lo cual las hace apropiadas para la generación de una población de mapeo a partir del cruzamiento inicial entre las mismas.

Los caracteres asociados a la captura de luz mostraron una correlación fenotípica positiva con $fRFAI_{max}$ y con BIO indicando que los genotipos que interceptaron mayores porcentajes de la radiación incidente en floración tendieron a ser los de mayores crecimientos y producción de materia seca. Además, en la combinación de los tres ambientes estos caracteres, excepto el NHT, presentaron una correlación fenotípica significativa con el RGP, siendo los más importantes el IAF y los caracteres que lo componen, es decir la LH y AH.

Los caracteres del canopeo asociados a un mayor tamaño del área foliar verde (IAF, LMH, AMH) y los vinculados con el número de hojas totales (EA, ES y AP) y una mayor persistencia del canopeo para interceptar la radiación incidente (PHV y PES) determinaron un mayor crecimiento de las plantas (BIO). Esa mayor acumulación de biomasa a lo largo del ciclo de vida determinó una mayor fijación de granos (NGP) por las mejores tasas de crecimiento de las plantas durante el periodo crítico de la floración y una mayor disponibilidad de asimilados producidos en

postfloración para llenar esos granos que aseguraron mayores pesos individuales (PG) y, en consecuencia, mayor rendimiento en grano (RGP) en los genotipos con estos rasgos en la población de RILs.

La heredabilidad estimada para los caracteres asociados a la captura de luz fue elevada, demostrando que la mayor proporción de la variación fenotípica de estos atributos se debe a la presencia de variabilidad genotípica asociada a los mismos. Sin embargo, los altos valores de heredabilidad no son suficientes para poder emplearlos como caracteres primarios en un esquema de selección indirecta orientado a mejorar el rendimiento, dado que no presentaron una correlación genotípica elevada con este último y la predicción de la respuesta correlacionada en rendimiento a través de estos caracteres fue menor que la predicción de la respuesta por selección directa en rendimiento. Sin embargo, algunos de estos rasgos (IAF, LMH, AMH, PHV) presentaron una correlación con la producción de biomasa, la cual posee una alta asociación con el rendimiento en grano por planta. Por lo tanto, podrían emplearse para mejorar el rendimiento a partir de un aumento en la producción de biomasa, aunque la factibilidad de emplearlos como caracteres secundarios debe ser determinada mediante índices de selección. La estrategia del mejoramiento del rendimiento considerando los caracteres que influyen en la captura de luz, debe tener en cuenta la complejidad del registro de los datos fenotípicos de los mismos. En este trabajo se cuantificó mediante la predicción de la respuesta correlacionada, la posible utilidad de estos caracteres en un esquema de selección indirecta orientado a mejorar el rendimiento en granos.

De acuerdo a los resultados obtenidos mediante el análisis de sendero, el IAF fue el atributo que presentó los mayores efectos directos sobre el RGP y además tuvo efectos indirectos a través de otros caracteres, por lo tanto sería el atributo más importante a considerar como un carácter secundario mediante la implementación de un índice de selección. De sus caracteres componentes, el AMH es el más factible de considerar a la hora de aumentar el IAF, dada su mayor correlación con BIO y RGP con respecto a la LMH, además de no haber presentado una correlación negativa con el IC. Además, se observó una correlación genotípica elevada entre PHV e IC, lo cual indica que este rasgo tienen un efecto sobre la partición de asimilados a estructuras reproductivas y podría emplearse como un carácter a tener en cuenta en un índice de selección, para mejorar la eficiencia con que la planta destina recursos hacia la producción de granos.

Mediante los métodos de mapeo con los cuales se analizaron los caracteres de manera individual se identificaron QTLs de efecto mayor y efecto menor, demostrando con esto que los caracteres asociados a la captura de luz se encuentran bajo un control genético complejo. Mediante el método CIM, la gran mayoría de los QTLs identificados presentaron una

inconsistencia en la expresión a través de ambientes, posiblemente debido al efecto de la interacción GxE. Por su parte, el método MT-MIM permitió identificar algunos QTLs que mostraron efecto pleiotrópico sobre los rasgos asociados a la captura de luz, a floración y a senescencia. Además, se identificaron tres QTLs con efecto pleiotrópico sobre IAF, BIO y RGP y, dos regiones con efecto sobre la persistencia foliar, BIO y RGP. Estas regiones podrían emplearse en un programa de selección asistida por marcadores, optando por la variante alélica adecuada, para aumentar la producción de biomasa y el rendimiento, aunque debería prestarse especial consideración a la inconsistencia en su expresión.

Varios de los QTLs identificados se encuentran en regiones genómicas previamente reportadas por otros grupos de investigación indicando que más allá de tratarse de materiales genéticos y poblaciones de mapeo diferentes, estos caracteres podrían estar controlados por regiones genómicas conservadas. Además, en cuatro de estas regiones que coinciden con la bibliografía se detectaron marcadores moleculares ligados a las mismas, los cuales fueron reportados en trabajos previos. Por lo tanto, algunos de los marcadores citados por la literatura por estar ligados a QTLs asociados a rasgos de la captura de luz fueron útiles en las líneas empleadas en este trabajo de tesis. Además, se identificaron nuevas regiones genómicas, que previamente no habían sido reportadas por otros grupos de investigación, con lo cual se amplía el conocimiento de las bases genéticas que controlan la variación de estos caracteres.

La información obtenida a partir de esta tesis, en la cual se evaluaron materiales genéticos pertenecientes al programa de mejoramiento de INTA, que no habían sido previamente evaluados, permitió determinar el efecto de ciertos caracteres asociados a la captura de luz sobre la producción de biomasa y el rendimiento. Además, la identificación de regiones genómicas que controlan la variación de estos atributos, será importante para implementar a futuro estrategias orientadas a mejorar la eficiencia en la intercepción de radiación, mediante un esquema de selección asistida por marcadores, con el objetivo de obtener líneas endocriadas mejoradas y, en última instancia aumentar el rendimiento en granos de este cultivo.

6. BIBLIOGRAFÍA

Aldrich, S.R., Scott, W.O and Leng, E.R. (1975). "Modern corn Production", 2nd ed. Champaign, IL, USA, A & L Publications.

Alexandrov, N.N., Brover, V.V., Freidin, S., Troukhan, M.E., Tatarinova, T.V., Zhang, H., Swaller, T.J., Lu, Y., Bouck, J., Flavell, R.B and Feldmann, K.A. (2009). "Insights into corn genes derived from large-scale cDNA sequencing". *Plant Molecular Biology*, 69: 179–194. DOI 10.1007/s11103-008-9415-4.

Allen, J.R., McKee, G.W and McGahen, J.H. (1973). "Leaf number and maturity in hybrid corn". *Agronomy Journal*, 65: 233-235.

Álvarez Prado, S., López, C.G., Gambín, B.L., Abertondo, V.J and Borrás, L. (2013). "Dissecting the genetic basis of Physiological processes determining maize kernel weight using the IBM (B73 x Mo17) Syn4 population". *Field Crops Research*, 145: 33-43.

Alves Lima, M., Lopes de Souza Jr, C., Vieira Bento, D.A., Pereira de souza, A and Carlini-Garcia, L.A. (2006). "Mapping QTL for grain yield and plant traits in a tropical maize population". *Molecular Breeding*, 17: 227-239.

Amelong, A., Gambín, B., Severini, A and Borrás, L. (2015). "Predicting maize kernel number using QTL information". *Field Crop Research*, 172: 119-131.

Andrade, F.H., Cirilo, A.G., Uhart, S and Otegui, M.E. (1996). "Ecofisiología del cultivo de maíz". Editorial La Barrosa y Dekalb Press. ISBN 987-96163-0-8: pp 81–99.

Andrade, F.H., Vega, G., Uhart, S., Cirilo, A., Cantarero, M and Valentinuz, O. (1999). "Kernel number determination in maize". *Crop. Science*, 39: 453-459.

Andrade, F.H., Otegui, M.E and Vega, C. (2000). "Intercepted radiation at flowering and kernel number in maize". *Agronomy Journal*, 92: 92-97.

Aquino Portes, T and Cabral de Melo, H. (2014). "Light interception, leaf area and biomass production as a function of the density of maize plants analyzed using mathematical models". *Acta Scientiarum. Agronomy*, 36 (4): 457-463.

Austin, D.F., Lee, M and Veldboom, L.R. (2001). "Genetic mapping in maize with hybrid progeny across tester and generations: plant height and flowering". *Theoretical Applied Genetics*, 102: 163-176.

Baker, R.J. (1986). "Selection indices in plant breeding". CRC Press, Boca Raton, FL.

Bassam, B.J., Caetano-Anollés, G and Gresshoff, P.M. (1991). "Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrilamide gels". *Analytical Biochemistry*, 196, 80-83.

- Beadle, G.W. (1980). "The ancestry of corn". *Science American*, 242: 112-119.
- Belfcuas, P.R., Aguiar, A.M., Vieira Bento, D.A., Maxwell Cámara, T.M and Lopes de Souza Junior, C. (2014). "Inheritance of *stay green* trait in tropical maize". *Euphytica*, 198: 163-173.
- Benjamini, Y and Hochberg, Y. (1995). "Controlling the false discovery rate: a practical and powerfull approach to multiple testing". *Journal Royal Statist*, 57 (1): 289-300.
- Bergamaschi, H., Dalmago, G.A., Bergonci, J.I., Bianchi Krüger, C.A.M., Heckler, B.M.M and Comiran, F. (2010). "Intercepted solar radiation by maize crops subjected to different tillage systems and water availability levels". *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.45, n.12, p.1331-1341.
- Berke, T and Rocheford, T. (1995). "Quantitative trait loci for flowering, plant and ear height, and kernel traits in maize". *Crop Science*, 35: 1542-1549.
- Bernardo, R. (2008). "Molecular markers and selection for complex traits in plants: learning from the last 20 years". *Crop Science*, 48: 1649-1664.
- Birch, C.J., Thornby, D., Andrieu, B and Hanan, J. (2006). "Architectural modelling of maize under water stress". *Maize association of Australia. 6th triennial Conference*, 2006.
- Bolaños, J and Edmeades, G.O. (1996). "The importance of the anthesis-silking interval in breeding for drought tolerance in tropical maize". *Field Crops Research*, 48: 65–80. doi: 10.1016/0378- 4290(96)00036-6.
- Bolsa de Comercio de Rosario. (2016). <https://www.bcr.com.ar/Pages/gea/estimaProd.aspx>
- Borrás, L and Otegui, M.E. (2001). "Maize kernel weight response to post-flowering source–sink ratio". *Crop Science*, 49: 1816–1822.
- Borras, L., Maddonni, G.A and Otegui, M.E. (2003). "Leaf Senescence in maize hybrids: plant population, row spacing and kernel set effects". *Field Crop Research*, 83: 13-26.
- Burr, B and Burr, F.A. (1991). "Recombinant inbreds for molecular mapping in maize: theoretical and practical considerations". *Elsevier Science Publishers*, 7 (2): 1-6.
- Cai, H., Chu, Q., Yuan, L., Liu, J., Chen, X., Chen, F., Mi, G and Zhang, F. (2012). "Identification of quantitative trait loci for leaf area and chlorophyll content in maize (*Zea mays* L.) under low nitrogen and low phosphorous supply". *Molecular Breeding*, 30: 251–266. DOI 10.1007/s11032-011-9615-5.
- Cantarero, M.G., Cirilo, A.G and Andrade, F.H. (1999). "Night temperature at silking affects kernel set in maize". *Crop Science*, Cap. 39: 703–710.

Cao, N., Yu, H.Q., Wang, S.B., Yu, T and Cao, M.J. (2006). "Analysis on canopy structure and photosynthetic characteristics of high yield maize population". *Journal of Maize Science*, 14 (5): 94-97.

Cárcova, J., Abeledo, G.L and López Pereira, M. (2003). "Análisis de la generación del rendimiento: crecimiento, partición y componentes. En Producción de Granos. Bases funcionales para su manejo". Satorre, E. H. *et al.* (Ed.). Editorial Facultad de Agronomía UBA, Bs. As., pp 73–98.

Cassman, K.G., Dobermann, A., Walters, D.T and Yang, H. (2003). "Meeting cereal demand while protecting natural resources and improving environmental quality". *Annual Review of Environment and Resources*, 28: 315–358.

Ceppi, D., Sala, M., Gentinetta, E., Verderio, A and Motto, M. (1987). "Genotype-dependent leaf Senescence in maize". *Plant Physiology*, 85: 720-725.

Chakraborty, R., Kimmel, M., Stivers, D.N., Davison, L.J and Deka, R. (1997). "Relative mutation rates at di-, tri-, and tetranucleotide microsatellite loci". *Proceedings of the National Academy of Science*, 94: 1041–1046.

Cheema, J and Dicks, J. (2009). "Computational approaches and software tools for genetic linkage map estimation in plants". *Briefings in Bioinformatics*, 10 (6): 595-608.

Chen, W., Liu, H., Zhang, J., Fu, Z., Liu, Y., Liu, Y., Yang, H and Huang, H. (2013). "Genetic analysis and assessment of *stay-green* traits in hybrids of temperate and tropical maize germplasm". *Maydica*, 58: 260-265.

Chen, X., Xu, D., Liu, Z., Yu, T., Mei, X and Cai, Y. (2015). "Identification of QTL for leaf angle and leaf space above ear position across different environments and generations in maize (*Zea mays* L.)". *Euphytica*, 204: 395-405.

Chin, E.C.L., Senior, M.L., Shu, H and Smith, J.S.C. (1996). "Maize simple repetitive DNA sequences: abundance and allele variation". *Genome*, 39: 866-873.

Churchill, G.A and Doerge, R.W. (1994). "Empirical threshold values for quantitative trait mapping". *Genetics*, 138: 963–971.

Cirilo, A.G and Andrade, F.H. (1994). "Sowing date and maize productivity: II. Kernel number determination". *Crop Science*, 34: 1044-1046.

Cirilo, A.G and Andrade, F.H. (1996). "Sowing date and kernel weight in maize". *Crop Science*, 36: 325-331.

Cirilo, A.G., Andrade, F., Maddonni, G., Vega, C and Valentinuz, O. (2012). "Ecofisiología del Cultivo de Maíz". *En: Eyhéabide, G.H (ed). Bases para el manejo del cultivo de Maíz. Ediciones INTA, Bs.As. pp. 25-56.*

Collard, B.C.Y., Jahufer, M.Z.Z., Brouwer, J.B and Pang, E.C.K. (2005). "An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts". *Euphytica*, 142: 169-196.

Crasta, O.R., Xu, W., Rosenow, D.T., Mullet, J.E and Nguyen, H.T. (1999). "Mapping of post flowering drought tolerance traits in grain sorghum: association of QTLs influencing premature senescence and maturity". *Molecular Genetics and Genomics*, 262: 579-588.

Cui, T., He, K., Chang, L., Zhang, X., Xue, J and Liu, J. (2017). "QTL mapping for leaf area in maize (*Zea mays* L.) under multi-environments". *Journal of Integrative Agriculture*, 16 (1): 60345-7.

D'Andrea, K.E., Otegui, M.E., Cirilo, A.G and Eyhéabide, G. (2006). "Genotypic variability in morphological and physiological traits among maize inbred lines-nitrogen responses". *Crop Science*, 46: 1266-1276.

D'Andrea, K.E., Otegui, M.E., Cirilo A.G and Eyhéabide, G. (2009). "Ecophysiological traits in maize hybrids and their parental inbred lines: Phenotyping of responses to contrasting nitrogen supply levels". *Field Crops Research*, 114: 147-158.

D'Andrea, K.E., Otegui, M.E., Cirilo, A.G and Eyhéabide, G.H. (2013). "Parent-Progeny relationships between maize inbreds and hybrids: analysis of grain yield and its determinants for contrasting soil nitrogen conditions". *Crop Science*, 53: 2147-2161.

D'Andrea, K.E., Piedra, C.V., Mandolino, C.I., Bender, R., Cerri, A.M., Cirilo, A.G and Otegui, M.E. (2016). "Contribution of reserves to kernel weight and grain yield determination in maize: phenotypic and genotypic variation". *Crop Science*, 56 (2): 697-706.

Da Costa E Silva, L., Wang, S and Zeng, Z. (2012). "Multiple trait multiple interval mapping of quantitative trait loci from inbred lines crosses". *BMC Genetics*, 13 (67): 1-24. Doi: 10.1186/1471-2156-13-67.

Dellaporta, S.L and Calderón-Urrea, A. (1994). "The sex determination process in maize". *Science*, 266 (5190): 1501-1505.

Ding, J., Zhang, L., Chen, J., Li, X., Li, Y., Cheng, H., Huang, R., Zhou, B., Li, Z., Wang, J and Wu, J. (2015). "Genomic dissection of leaf angle in maize (*Zea mays* L.) using a four-way cross mapping population". *Plos One* 10 (10), p. 1-13: e0141619. doi:10.1371/journal.pone.0141619.

Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M and Robledo, C.W. (2015). "InfoStat versión 2015". Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.

Doebley, J. (1994). "Genetics and the morphological evolution of maize". *In* M. Freeling & V. Walbot, eds. *The maize handbook*, p. 66-77. New York, NY, USA, Springer-Verlag.

Doerge, R.W. (2002). "Mapping and analysis of quantitative trait loci in experimental populations". *Nature Reviews. Genetics*, 3: 43-52. Doi: 10.1038/nrg703.

Don, R.H., Cox, P.T., Wainwright, B.J., Baker, K and Mattick, J.S. (1991). "Tuchdown PCR to circumvent spurious priming during gene amplification". *Nucleic Acids Research*, 19 (14) 4008.

Dorweiler, J., Stec, A., Kermicle, J. & Doebley, J. (1993). "Teosinte glume architecture 1: a genetic locus controlling a key step in maize evolution". *Science*, 262: 233-235.

Duncan, W.G., Loomis, R.S., Williams, W.A and Hanau, R. (1967). "A model for simulating photosynthesis in plant communities". *Hilgardia*, 38: 181–205.

Duncan, W.G. (1971). "Leaf angle, leaf area, and canopy photosynthesis". *Crop Science*, 11: 482–485.

Duvick, D.N. (1997). "Genetic rates of gain in hybrid maize during the past 40 years". *Maydica*, 22: 187-196.

Duvick, D.N., Smith, J.S.C and Cooper, M. (2004). "Long-term selection in a comercial hybrid maize breeding program". p. 109–151. *In* J. Janick (ed.) *Plant breeding reviews*, Vol. 24, Pt. 2. John Wiley & Sons, New York.

Duvick, D.N. (2005). "The contribution of breeding to yield advances in maize (*Zea mays* L.)". *Advances in Agronomy*, 86: 83–145.

Echarte, L and Andrade, F.H. (2003). "Harvest index stability of Argentinian maize hybrids released between 1965 and 1993". *Field Crop Research*, 82: 1-12.

Echarte, L., Andrade, F.H., Vega, C.R.C and Tollenaar, M. (2004). "Kernel number determination in Argentinian maize hybrids released between 1965 and 1993" *Crop. Science*, 44: 1654-1661.

Echarte, L., Nagore, L., Di Mateo, J., Cambareri, M., Robles, M and Maggiora, A.D. (2013). "Grain yield determination and resource use efficiency in maize hybrids released in different decades". *Agricultural Chemistry*, Chapter 2. Eds, Margarita Stoytcheva and Roumen Zlatev. ISBN 978-953-51-1026-2. INTECH, p. 19-36. <http://dx.doi.org/10.5772/55287>.

Eyhérabide, G., Damilano, A., Colazo, J., Van Becelaere, A.F and Sans, R. (1992). "Ganancia genética en rendimiento de grano de maíz en Argentina desde 1979 hasta 1991". In: Asoc. Ing. Agr. del Norte de la Prov. de Buenos Aires (Eds.), Proceedings V Congreso Nacional de Maíz. Pergamino, Argentina, pp. 70–78.

Eyhérabide, G.H and Damilano, A.L. (2001). "Evolución de la ganancia genética en rendimiento de grano de maíz en Argentina entre 1979 y 1998. In: Asoc. Ing. Agr. del Norte de la Prov. de Buenos Aires (Eds.), Proceedings VII Congreso Nacional de Maíz. Pergamino, Argentina, p. 45.

Falconer, D.D. (1981). "Introduction to quantitative genetics". 2nd edition. Página 85, Longman, Londres y Nueva York.

Falconer, D.S. (1987). "Introdução à genética quantitativa". Tradução de Martinho de Almeida e Silva e José Carlos Silva. UFV-Imprensa Universitária, Viçosa, 279p.

Falconer, D.S and Mackay, T.F.C. (1996). "Introduction to quantitative genetics. Ed 4. Longmans Green, Harlow, Essex, UK.

FAO. <http://www.fao.org/docrep/004/y3557s/y3557s08.htm>. Depósitos de documentos de la FAO. "Agricultura mundial: Hacia los años 2015/2030". Producido por: Departamento Económico y Social.

Fengler, K., Allen, S.M., Li, B and Rafalski, A. (2007). "Distribution of genes, recombination, and repetitive elements in the maize genome". *Crop Science*, 47: 83-95.

Fischer, R.A and Edmeades, G.O. (2010). "Breeding and cereal yield progress". *Crop Science*, 50: 85-98.

Galinat, W.C. (1988). "The origin of corn". In G.F. Sprague & J.W. Dudley, eds. *Corn and corn improvement*, 3rd ed., p. 1-31. Madison, WI, USA, American Society of Agronomy.

Galinat, W.C. (1994). "The patterns of plant structures in maize". In M. Freeling & V. Walbot, eds. *The maize handbook*, p. 61-65. New York, NY, USA, Springer-Verlag.

Gambín, B.L., Borrás, L and Otegui, M.E. (2006). "Source–sink relations and kernel weight differences in maize temperate hybrids". *Field Crops Research*, 95: 316–326.

Gambín, B.L., Borrás, L and Otegui, M.E. (2008). "Kernel weight dependence upon plant growth at different grain-filling stages in maize and Sorghum". *Australian Journal of Agricultural Research*, 59: 280–290.

Gardiner, J.M., Coe, E.H., Melia-Hancock, S., Hoisington, D.A and Chao, S. (1993). "Development of a core RFLP map in maize using an immortalized F2 population". *Genetics*, 134: 917-930.

Gentinetta, E., Ceppi, D., Lepori, C., Perico, G., Motto, M and Salamini, F. (1986). "A major gene for delayed senescence in maize-pattern of photosynthates accumulation and inheritance". *Plant Breeding*, 97: 193–203.

Goldstein, D.B and Clark, A.G. (1995). "Microsatellite variation in north American populations of *Drosophila melanogaster*". *Nucleic Acids Research*, 23: 3882-3886.

Grandillo, S., Ku, H.M and Tanksley, S.D. (1999). "Identifying the loci responsible for natural variation in fruit size and shape in tomato". *Theoretical and Applied Genetics*, 99: 978–987.

Guo, J., Xiao, K., Guo, X.Y., Zhang, F.L and Zhao, C.J. (2005). "Review on maize canopy structure, light distribution and canopy photosynthesis". *Journal of Maize Science*, 13: 55-59.

Guo, J., Su, G., Zhang, J and Wang, G. (2008). "Genetic analysis and QTL mapping of maize yield and associate agronomic traits under semi-arid land condition". *African Journal of Biotechnology*, 7 (12): 1829-1838.

Guo, S., Ku, L., Qi, J., Tian, Z., Han, T., Zhang, L., Su, H., Ren, Z and Chen, Y. (2015). "Genetic analysis and mayor quantitative trait locus mapping of leaf widths at different positions in multiple populations". *Plos One*, 10 (3): 1-14. e0119095. doi:10.1371/journal.pone.0119095.

Gupta, P.K., Balyan, H.S., Sharma, P.C and Ramesh, B. (1996) "Microsatellites in plants: a new class of molecular markers". *Current Science*, 70: 45–54.

Haldane, J.B.S. (1919). "The combination of linkage values and the calculation of distances between the loci of linked factors". *Journal of Genetics*, 8: 299-309.

Hallauer, A.R., Carena, M.G and Filho, J.B.M. (2010). "Quantitative Genetics in maize breeding". In: *Handbook of plant breeding*. ISBN 978-1-4419-0765-3 and ISBN 978-1-4419-0766-0, DOI 10.1007/978-1-4419-0766-0.

Hammer, L., Dong, Z., McLean, G., Doherty, A., Messina, C., Schussler, J., Zinselmeier, C., Paszkiewicz, S and Cooper, M. (2009). "Can changes in canopy and/or root system architecture explain historical maize yield trend in the U.S. corn belt?". *Crop. Science*, 49: 299-312.

Hao, Z.F., Li, X.H., Xie, C.X., Li, M.S., Zhang, D.G., Bai, L and Zhang, S.H. (2008). "Two consensus quantitative trait loci clusters controlling anthesis–silking interval, ear setting and grain yield might be related with drought tolerance in maize". *Annals of Applied Biology*, 153: 73–83.

Harper, L and Freeling, M. (1996). "Interactions of *liguleless1* and *liguleless2* function during ligule induction in maize". *Genetics*, 144: 1871–1882.

Hausmann, B., Mahalakshmi, V., Reddy, B., Seetharama, N., Hash, C and Geiger, H. (2002). "QTL mapping of *stay-green* in two sorghum recombinant inbred populations". *Theoretical and Applied Genetics*, 106: 133-142.

Holland, J.B., Nyquist, W.E and Cervantes-Martínez, C.T. (2003). "Estimating and interpreting heritability for plant breeding: An update". *Plant Breeding Reviews*, 22: 9-112.

Incognito, S., Navas, M., Mazo, N., Maddonni, G and Lopez, C. (2017). "Control genético de caracteres de la arquitectura de la planta asociados al estrés por alta densidad en la población de RILs IBM (B73xMo17) Syn4 de maíz (*Zea mays* L.)". III Workshop Internacional de Ecofisiología de Cultivos, Mar del Plata, 2017. Sección III: Eficiencia en el uso de los recursos.

Jiang, C and Zeng, Z. (1995). "Multiple trait analysis of genetic mapping for quantitative trait loci". *Genetics*, 140: 1111-1127.

Jiang, G.H., He, Y.Q., Xu, C.G., Li, X and Zhang, Q. (2004). "The genetic basis of *stay-green* in rice analyzed in a population of doubled haploid lines derived from an *indica* by *japonica* cross". *Theoretical and Applied Genetics*, 108: 688-698.

Kante, M., Revilla, P., De La Fuente, M., Caicedo, M and Ordás, B. (2016). "*Stay-green* QTL in temperate elite maize". *Euphytica*, 207: 463–473.

Kao, C., Zeng, Z and Teasdale, R. (1999). "Multiple interval mapping for quantitative trait loci". *Genetics*, 152: 1203-1216.

Kerstetter, R.A., Bollman, K., Taylor, R.A., Bomblies, K and Poethig, R.S. (2001). "KANADI regulates organ polarity in Arabidopsis". *Nature*, 411: 706–709.

Kleinhofs, A., Kilian, A., Saghai Maroof, M.A., Biyashev, R.M., Hayes, P., Chen, F.Q., Lapitan, N., Fenwick, A., Blake, T.K and Kanazin, V, *et al.* (1993). "A molecular, isozyme and morphological map of the barley (*Hordeum vulgare*) genome". *Theoretical and Applied Genetics*, 86 (6): 705-712.

Knapp, S.J., Bridges, W.C and Birkes, D. (1990). "Mapping quantitative trait loci using molecular marker linkage maps". *Theoretical and Applied Genetics*, 79: 583-592.

Kong, F., Zhang, T., Liu, J., Heng, S., Shi, Q., Zhang, H., Wang, Z., Ge, L., Li, P., Lu, X and Li, G. (2017). "Regulation of leaf angle by auricle development in maize". *Molecular Plant*, 10: 516-519. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molp.2017.02.001>.

Kosambi, D.D. (1944). "The estimation of map distances from recombination values". *Annals of Eugenics*, 12: 172-175.

Ku, L.X., Zhao, W.M., Zhang, J., Wu, L.C., Wang, C.L., Wang, P.A., Zhang, W.Q. and Chen, Y.H. (2010). "Quantitative trait loci mapping of leaf angle and leaf orientation value in maize (*Zea mays* L.)". *Theoretical and Applied Genetics*, 121: 951-959.

Ku, L., Wei, X., Zhang, S., Zhang, J., Guo, S and Chen, Y. (2011). "Cloning and characterization of a putative TAC1 ortholog associated with leaf angle in maize (*Zea mays* L.)". *PLoS ONE* 6 (6): 1-7. e20621. doi:10.1371/journal.pone.0020621.

Ku, L.X., Zhang, L., Guo, S.L., Liu, H.Y., Zhao, R.F and Chen, Y.H. (2012). "Integrated multiple population analysis of leaf architecture traits in maize (*Zea mays* L.)". *Journal of Experimental Botany*, 63 (1): 261-274.

Ku, L., Cao, L., Wei, X., Su, H., Tian, Z., Guo, S., Zhang, L., Ren, Z., Wang, X., Zhu, Y., Li, G., Wang, Z and Chen, Y. (2015). "Genetic dissection of internode length above the uppermost ear in four RIL populations of maize (*Zea mays* L.)". *Genes/Genomes/Genetics*, 5: 281-289.

Ku, L., Ren, Z., Chen, X., Shi, Y., Qi, J., Su, H., Wang, Z., Li, G., Wang, X., Zhu, Y., Zhou, J., Zhang, X and Chen, Y. (2016). "Genetic analysis of leaf morphology underlying the plant density response by QTL mapping in maize (*Zea mays* L.)". *Molecular Breeding*, 36 (63): 1-16. DOI 10.1007/s11032-016-0483-x.

Kuczynska, A., Surma, M and Adamski, T. (2007). "Methods to predict transgressive segregation in barley and other self-pollinated crops". *Journal of Applied Genetics*, 48 (4): 321-328.

Kumar, U., Joshi, A.K., Kumari, M., Paliwal, R., Kumar, S and Röder, M.S. (2010). "Identification of QTLs for *stay green* trait in wheat (*Triticum aestivum* L.) in the 'Chirya 3' x 'Sonalika' population". *Euphytica*, 174: 437-445.

Lafitte, H.R. (2001). "Fisiología del maíz tropical". En: En: "El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción". Autor principal: Paliwal, R.L.

Lambert, R.J and Johnson, R.R. (1978). "Leaf angle, tassel morphology, and the performance of maize hybrids". *Crop Science*, 18: 499-502.

Langdale, J. (2005). "The then and now of maize leaf development". *Maydica*, 50: 459-467.

Lee, E.A and Tollenaar, M. (2007). "Physiological basis of successful breeding Strategies for maize grain yield". *Crop Science*, 47: 202-215.

Li, Z., Jakkula, L., Hussey, R.S., Tamulan, S and Boerma, J.P. (2001). "SSR mapping and confirmation of the QTL from PI96354 conditioning soybean resistance to southern root-knot nematode". *Theoretical and Applied Genetics*, 103 (8): 1167-1173.

Li, Z., Yu, S.B., Lafitte, H.R., Huang, N., Courtois, B., Hittalmani, S., *et al.* (2003a). “QTL × environment interactions in rice: I. Heading date and plant height”. *Theoretical and Applied Genetics*, 108: 141-153.

Li, X., Liu, X., Li, M and Zhang, S. (2003b). “Identification of quantitative trait loci for anthesis-silking interval and yield components under drought stress in maize”. *Acta Botanica Sinica*, 45 (7): 852-857.

Li, P.J., Wang, Y.H., Qian, Q., Fu, Z., Wang, M., *et al.* (2007). “LAZY1 controls rice shoot gravitropism through regulating polar auxin transport”. *Cell Research*, 17: 402-410.

Li, L., Petsch, K., Shimizu, R., Liu, S., Xu, W.W., Ying, K., Yu, J., Scanlon, M.J., Schnable, P.S., Timmermans, M.C.P., Springer, N.M and Muehlbauer, G.J. (2013). “Mendelian and non-mendelian regulation of gene expression in maize”. *Plos Genet* 9 (1): e1003202. doi:10.1371/journal.pgen.1003202.

Li, Z.Q., Zhang, H.M., Wu, X.P., Sun, Y and Liu, X.H. (2014). “Quantitative trait locus analysis for ear height in maize based on a recombinant inbred line population”. *Genetic Molecular Research*, 13 (1): 450-456.

Li, C., Li, Y., Shi Y., Song, Y., Zhang, D., Buckler, E.S., Zhang, Z., Wang, T and Li, Y. (2015). “Genetic control of the leaf angle and leaf orientation value as revealed by ultra-high density maps in three connected maize populations”. *Plos One*, 10 (3): 1-13.

Li, D., Wang, X., Zhang, X., Chen, Q., Xu, G., Xu, D., Wang, C., Liang, Y., Wu, L., Huang, C., Tian, J., Wu, Y and Tian, F. (2016a). “The genetic architecture of leaf number and its genetic relationship to flowering time in maize”. *New Phytologist*, 210: 256–268. doi: 10.1111/nph.13765.

Li, C., Li, Y., Shi, Y., Song, Y., Zhang, D., Buckler, E.S., Zhang, Z., Li, Y and Wang, T. (2016b). “Analysis of recombination QTLs, segregation distortion, and epistasis for fitness in maize multiple populations using ultra-high-density markers”. *Theoretical and Applied Genetics*, 129: 1775–1784.

Lindquist, J.L., Arkebauer, T.J., Walters, D.T., Kenneth, G.C., Dobermann, A. (2005). “Maize radiation use efficiency under optimal growth conditions”. *Agronomy Journal*, 97: 72-78.

Liu, X., Zheng, Z., Tan, Z., Li, Z., He, C., Liu, D., Zhang, G and Luo, Y. (2010). “QTL mapping for controlling anthesis-silking interval based on RIL population in maize”. *African Journal of Biotechnology*, 9 (7): 950-955.

Liu, T., Song, F., Liu, S and Zhu, X. (2011). “Canopy structure, light interception and photosynthetic characteristics under different narrow-wide planting patterns in maize at silking stage”. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 9 (4): 1249-1261.

Lorieux, M., Goffinet, B., Perrier, X and Lanaud, C. (1995). "Maximum-likelihood models for mapping genetic markers with segregation distortion: 1. Backcross populations". *Theoretical and Applied Genetics*, 90: 73-80.

Lu, H., Romero-Severson, J and Bernardo, R. (2002). "Chromosomal regions associated with segregation distortion in maize". *Theoretical and Applied Genetics*, 105: 622-628.

Lu, M., Zhou, F., Xie, C.X., Li, M.S., Xu, Y.B., Marilyn, W and Zhang, S.H. (2007). "Construction of a SSR linkage map and mapping of quantitative trait loci (QTL) for leaf angle and leaf orientation with an elite maize hybrid". *Heredity*, 29: 1113-1131.

Lu, L., Tao, H.H.B., Xia, L.K., Zhang, Y.J., Zhao, M., *et al.* (2008). "Canopy structure and photosynthesis traits of summer maize under different planting densities". *Acta Agronomica Sinica*, 34: 447-455.

Luque, S.F., Cirilo, A.G and Otegui, M.E. (2006). "Genetic gains in grain yield and related physiological attributes in Argentina maize hybrids". *Field Crop Research*, 95: 383-397.

Lyttle, T.W. (1991). "Segregation distorters". *Annual Review of Genetics*, 25: 511-557.

Mackay, T.F.C. (2001). "The genetic architecture of quantitative traits". *Annual Review of Genetics*, 35: 303-339.

McSteen, P., Laudencia-Chingcuanco, D and Colasanti, J. (2000). "A floret by any other name: control of meristem identity in maize". *Trends in Plant Science*, 5: 61–66.

Maddonni, G.A. and Otegui, M.E. (1996). "Leaf area, light interception, and crop development in maize". *Field Crops Research*, 48: 81-87.

Maddonni, G.A., Otegui, M.E and Cirilo, A.G. (2001). "Plant population density, row spacing and hybrids effects on maize canopy architecture and light attenuation". *Field Crops Research*, 71: 183-193.

Malosetti, M., Ribaut, J.M., Vargas, M., Crossa, J and van Eeuwijk, F.A. (2008). "A multi-trait multi-environment QTL mixed model with an application to drought and nitrogen stress trial in maize (*Zea mays* L.)". *Euphytica*, 161: 241-257.

Mandolino, C.I., D'Andrea, K.E., Piedra, C.V., Álvarez Prado, S., Olmos, S.E., Cirilo, A.G and Otegui, M.E. (2016). "Kernel weight in maize: genetic control of its Physiological and compositional determinants in a dent x flint caribbean RIL population". *Maydica electronic publication*, 61 (38): 1-13.

Matsuoka, Y., Mitchell, S.E., Kresovich, S., Goodman, M and Doebley, J. (2002). "Microsatellites in *Zea* – variability, patterns of mutations, and use for evolutionary studies". *Theoretical and Applied Genetics*, 104: 436-450.

McKee, G.W., McGahen, J.H., Peiffer, R.A and Allen, J.R. (1974). "Interrelationships of maturity, leaf area index, time of black layer formation, heat units and yield of 120 corn hybrids". *Agronomy Abstracts*, 87.

Mickelson, S.M., Stuber, C.S., Senior, L and Kaeppler, S.M. (2002). "Quantitative trait loci controlling leaf and tassel traits in a B73 x Mo17 population of maize". *Crop Science*, 42: 1902-1909.

Mirabilio, V., D'Andrea, K.E., Otegui, M.E., Cirilo, A.G y Eyhérbide, G. (2010). "Variabilidad genotípica en líneas endocriadas recombinantes de maíz: I- estudio de la heredabilidad para los determinantes ecofisiológicos del rendimiento". IX Congreso Nacional de Maíz. Trabajos presentados. Genética, mejoramiento y biotecnología. Pág: 353-355.

Montemayor Trejo, J.A., Zermeño González, A., Olague Ramirez, J., Aldaco Nuncio, R., Fortis Hernández, M., Salazar Sosa, E., Rodríguez Ríos, J.C y Vázquez-Vázquez, C. (2006). "Efecto de la densidad y estructura del dosel de maíz en la penetración de la radiación solar". *Revista Internacional de Botánica Experimental*, 75: 47-53.

Montgomery, E.G. (1911). "Correlation studies in corn". *Nebraska Agricultura Experiment Station Annual. Rep*: 24: 108-159.

Moreno, M.A., Harper, L.C., Krueger, R.W., *et al.* (1997). "*Liguleless1* encodes a nuclear-localized protein required for induction of ligules and auricles during maize leaf organogenesis". *Genes and Development*, 11: 616-628.

Muchow, R.C., Sinclair, T.R. and Bennett, J.M. (1990). "Temperature and solar radiation effects on potential maize yield across locations". *Agronomy Journal*, 82: 338-343.

Muchow, R.C. (1994). "Effect of nitrogen on yield determination in irrigated maize in tropical and subtropical environments". *Field Crops Research*, 38: 1-13.

Munaro, E.M., Eyhérbide, G.H., D'Andrea, K.E., Cirilo, A.G and Otegui, M.E. (2011a). "Heterosis × environment interaction in maize: What drives heterosis for grain yield?". *Field Crops Research*, 124: 441–449.

Munaro, E.M., D'Andrea, K.E., Otegui, M.E., Cirilo, A.G and Eyhérbide, G.H. (2011b). "Heterotic Response for Grain Yield and Ecophysiological Related Traits to Nitrogen Availability in Maize". *Crop Science*, 51: 1172-1187.

Nielsen, R.L. (2000). "Corn growth and development. What goes on from planting to harvest?". *AGRY-97-07 (v1.1).doc*, last revised 8/18/02.

Nikolic, A., Andjelkovic, V., Dodig, D and Ignjatovic-Micic, D. (2011). "Quantitative trait loci for yield and morphological traits in maize under drought stress". *Genetika*, 43 (2): 263-276.

Noodén, L.D., Guiamét, J.J and John, I. (1997). "Senescence mechanisms". *Physiology Plant*, 101: 746-753.

Olmos, S., Schlatter, A.R., Delucchi, C., Ravera, M., Negri, M.E., Mandolino, C., Mroginski, E and Eyhéabide, G. (2010). "Estimación de la estructura genética en las líneas de maíz de INTA Pergamino mediante el programa STRUCTURE V. 2.3.3". IX Congreso Nacional de maíz y simposio nacional de sorgo. Rosario.

Olmos, S.E., Delucchi, C., Ravera, M., Negri, M.E., Mandolino, C and Eyhéabide, G.H. (2014). "Genetic relatedness and population structure within the public Argentinian collection of maize inbred lines". *Maydica*, 59 (1): 16-31.

Osterom, E.J., Van and Jayachandran, R and Bidinger, F.R. (1996). "Diallel analysis of the *stay green* trait and its components in sorghum". *Crop Science*, 36: 549-555.

Otegui, M.E. (1995). "Prolificacy and grain yield components in modern Argentinian maize hybrids". *Maydica*, 40: 371-376.

Paliwal, R.L. (2001). "Introducción al maíz y su importancia". En: "El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción". Autor principal: Paliwal, R.L.

Pan, Q., Li, L., Yang, X., Tong, H., Xu, S., Li, Z., Li, W., Muehlbauer, G.J., Li, J and Yan, J. (2016). "Genome-wide recombination dynamics are associated with phenotypic variation in maize". *New Phytologist*, 210: 1083–1094. doi: 10.1111/nph.13810.

Paterson, A.H. (1996). "Making genetic maps". In: A.H. Paterson (Ed.), *Genome Mapping in Plants*, pp. 23–39. R. G. Landes Company, San Diego, California; Academic Press, Austin, Texas.

Pearson, C.J. and Hall, A.J. (1984). "Maize and pearl millet". In C.J. Pearson, ed. *Control of crop productivity*, p. 141-158. New York, NY, USA, Academic Press.

Pelleschi, S., Leonardi, A., Rocher, J.P., Cornic, G., de Vienne, D., Thevenot, C., *et al.* (2006). "Analysis of the relationships between growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism using quantitative trait loci (QTLs) in young maize plants subjected to water deprivation". *Molecular Breeding*, 17: 21–39.

Pendleton, J.W., Smith, G.E., Winter, S.R and Johnston, T.J. (1968). "Field investigation of the relationships of leaf angle in corn (*Zea mays* L.) to grain yield and apparent photosynthesis". *Agronomy Journal*, 60: 422–424.

Pepper, G.E., Pearce, R.B and Mock, J.J. (1977). "Leaf orientation and yield of maize". *Crop Science*, 17: 883–886.

Petes, T. D., Greenwell, P. W and Dominska, M. (1997). "Stabilization of microsatellite sequences by variant repeats in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*". *Genetics*, 146: 491–498.

Rajcan, I and Tollenaar, M. (1999). "Source: sink ratio and leaf senescence in maize. 1. Dry matter accumulation and partitioning during grain filling". *Field Crops Research*, 60: 245-253.

Reymond, M., Muller, B and Tardieu, F. (2004). "Dealing with the genotype x environment interaction via a modelling approach: a comparison of QTLs of maize leaf length or width with QTLs of model parameters". *Journal of Experimental Botany*, 55 (407) Water-Saving Agriculture Special Issue: 2461–2472.

Ribaut, J.M., Hoisington, D.A., Deutsch, J.A., Jiang, C and Gonzalez-de-Leon, D. (1996). "Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. 1. Flowering parameters and the anthesis-silking interval," *Theoretical and Applied Genetics*, 92 (7): 905–914.

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

Ribaut, J.M., Banziger, M., Betran, J., *et al.*, (2002). "Use of molecular markers in plant breeding: drought tolerance improvement in tropical maize," in *Quantitative Genetics, Genomics, and Plant Breeding*, M. S. Kang, Ed., pp. 85–99, CABI Publishing.

Ribaut, J.M., Banziger, M., Setter, T., Edmeades, G and Hoisington, D. (2004) "Genetic dissection of drought tolerance in maize: a case study," in *Physiology and Biotechnology Integration for Plant Breeding*, H. Nguyen and A. Blum, Eds., pp. 571–611, Marcel Dekker, New York, NY, USA.

Ribaut, J.M., Fracheboud, Y., Monneveux, P., Banziger, M., Vargas, M and Jiang, C. (2007). "Quantitative trait loci for yield and correlated traits under high and low soil nitrogen conditions in tropical maize". *Molecular Breeding*, 20: 15-29.

Rieseberg, L.H., Archer, M.A and Wayne, R.K. (1999). "Transgressive segregation, adaptation and speciation". *Heredity*, 83: 363-372.

Ritchie, S.W and Hanway, J.J. (1982). "How a corn plant develops". Sp. Rpt. #48. Iowa State University of Science and Technology. Cooperative Extension Service. Ames, IA.

Rodgers-Melnick, E., Bradbury, P.J., Elshire, R.J., Glaubitz, J.C., Acharya, C.B., Mitchell, S.B., Li, C., Li, Y and Buckler, E.S. (2015). "Recombination in diverse maize is stable, predictable, and associated with genetic load". *PNAS*, 112 (12): 3823-3828.

Roehrig, S. (1996). "Probabilistic inference and path analysis". *Decision Support Systems*, 16: 55-66.

Sakamoto, T. (2004). "An overview of gibberellin metabolism enzyme genes and their related mutants in rice". *Plant Physiology*. 134 (4): 1642–53.

Sakamoto T, Morinaka Y, Ohnishi T., *et al.*, (2006). "Erect leaves caused by brassinosteroid deficiency increase biomass production and grain yield in rice". *Nature Biotechnology*, 24: 105–109.

Salvagiotti, F. (2009). "Rendimientos potenciales en maíz. Brechas de producción y prácticas de manejo para reducirlas". Para mejorar la producción. INTA EEA Oliveros. p. 61-66.

Sari-Gorla, M., Villa, M., Frova, C., Krajewski, P and Di Fonzo, N. (1999). "Genetic analysis of drought tolerance in maize by molecular markers. II. Plant height and flowering," *Theoretical and Applied Genetics*, 99: 289–295.

SAS Institute. 1999. The SAS Online Doc v.9. SAS Institute Cary N.C.

Schlötterer, C and Tautz, D. (1992). "Slippage synthesis of simple sequence DNA". *Nucleic Acids Research*, 20 (2): 211-215.

Schuster, I and Cruz, C.D. (2008). "Estadística aplicada a populações derivadas de cruzamentos controlados". Viçosa, M.G. Editora UFV, 568 p. <http://www.ufv.br/dbg/gqmol/gqmol.htm>.

Searle, S.R., Casella, G and McCulloch, C.E. (1992). "Variance components". Chapter 6. "Maximum likelihood (ML) and restricted maximum likelihood (REML)". Pp. 232-257. Published by John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. ISBN-I 3 978-0-470-00959-8.

Severini, A.D., Borrás, L., Westgate, M.E and Cirilo, A.G. (2011). "Kernel number and kernel weight determination in dent and popcorn maize". *Field Crop Research*, 120: 360-369.

Sibov, S.T., Lopez De Souza Jr, C., Garcia, A.A.F., Silva, A.R., Garcia, A.F., Mangolin, C.A., Benchimol, L.L and Pereira De Souza, A. (2003). "Molecular mapping in tropical maize (*Zea mays* L.) using microsatellite markers. 2. Quantitative trait loci (QTL) for grain yield, plant height, ear height and grain moisture". *Hereditas*, 139: 107-115.

Sinclair, T.R and Sheehy, J.E. (1999). "Erect leaves and photosynthesis in rice". *Science*, 283: 1455.

Subedi, K.D and Ma, B.L. (2005). "Ear position, leaf area, and contribution of individual leaves to grain yield in conventional and leafy maize hybrids". *Crop Science*, 45: 2246-2257.

Szalma, S.J., Hostert, B.M., LeDeaux, J.R., Stuber, C.W and Holland, J.B. (2007). "QTL mapping with near-isogenic lines in maize". *Theoretical and Applied Genetics*, 114: 1211-1228.

Tan, L.B., Li, X.R., Liu, F.G., Sun, X.Y., Li, C.G., *et al.*, (2008). "Control of a key transition from prostrate to erect growth in rice domestication". *Nature Genetics*, 40 (11): 1360-1364.

Tang, J.H., Teng, W.T., Yan, J.B., Ma, X.Q., Meng, Y.J., Dai, J.R. and Li, J.S. (2007). "Genetic dissection of plant height by molecular markers using a population of recombinant inbred lines in maize". *Euphytica*, 155: 117-124.

Tanksley, S.D. (1993). "Mapping polygenes". *Annual Review Genetics*, 27: 205–233.

Thomas, H. (1992). "Canopy survival". In: Baker, N.R., Thomas, H (Eds). *Crop photosynthesis: spatial and temporal determinants*. Elsevier, Amsterdam, Pp. 11-41.

Tian, F., Bradbury, P., Brown, P., Hung, H., Sun, Q., Flint-Garcia, S., Rocheford, T.R., McMullen, M.D., Holland, J.B and Buckler, E.S. (2011). "Genome-wide association study of leaf architecture in the maize nested association mapping population". *Nature Genetics*, doi:10.1038/ng.746.

Tollenaar, M., Ying, J and Duvick, D.N. (2000). "Genetic gain in corn hybrids from the Northern and Central Corn Belt". p. 53-62. *In Proc. 55th Corn Sorghum Res. Conf.*, Chicago. 5-8 Dec. 2000. ASTA, Washington, D.C.

Tollenaar, M., and Lee, E.A. (2006). "Dissection of physiological processes underlying grain yield in maize by examining genetic improvement and heterosis". *Maydica*, 51: 399-408.

Trachsel, S., Sun, D., SanVicente, F.M., Zheng, J., Atlin, G.N., Suarez, E.G., Babu, R and Zhang, X. (2016). "Identification of QTL for early vigor and *stay green* conferring tolerance to drought in two connected advanced backcross populations in tropical maize (*Zea mays* L.)". *PLoS ONE* 11(3): e0149636. doi:10.1371/journal.pone.0149636. pp. 1-22.

Tuberosa, R., Salvi, S., Sanguineti, M.C., Landi, P., Maccaferri, M and Conti, S. (2002). "Mapping QTLs Regulating Morpho-physiological Traits and Yield: Case Studies, Shortcomings and Perspectives in Drought-stressed Maize". *Annals of Botany*, 89: 941-963, doi:10.1093/aob/mcf134.

Uribelarrea, M., Cárcova, J., Otegui, M.E and Westgate, M.E. (2002). "Pollen production, pollination dynamics and kernel set in maize". *Crop Science*, 42: 1910-1918.

Valencia-Ramirez, R.A and Ligarreto-Moreno, G.A. (2012). "Correlación fenotípica y análisis de sendero para el rendimiento de soya (*Glycine max* (L.) Merrill)". *Acta Agronomica*, 61 (4): 1-7.

Valentinuz, O and Tollenaar, M. (2004). "Vertical profile of leaf senescence during the grain-filling period in older and newer maize hybrids". *Crop Science*, 44: 827-834.

Vega, C.R.C., Andrade F.H and Sadras, V.O. (2001). "Reproductive partitioning and seed set efficiency in soybean, sunflower and maize". *Field Crops Research*, 72: 163-175.

Veldboom, L.R and Lee, M. (1996). "Genetic mapping of quantitative trait loci in maize in stress and nonstress environments. II. Plant height and flowering," *Crop Science*, 36 (5): 1320-1327.

Vogl, C and Xu, S. (2000). "Multipoint mapping of viability and segregation distorting loci using molecular markers". *Genetics*, 155: 1439-1447.

Walsh, J., Waters, C.A and Freeling, F. (1997). "The maize gene *liguleless2* encodes a basic leucine zipper protein involved in the establishment of the leaf-sheath boundary". *Genes and Development*, 11: 208-218.

Wang, C.S., Rutledge, J.J and Gianola, D. (1994). "Bayesian analysis of mixed linear models via Gibbs sampling with an application to litter size in Iberian pigs". *Genetic Selection Evolution*, 26: 91-115.

Wang, S., Basten, C.J and Zeng, Z.B. (2012a). "Windows QTL Cartographer 2.5". Department of Statistics. North Carolina State University. Raleigh. NC. <http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>.

Wang, A.Y., Li, Y and Zhang, C.Q. (2012b). "QTL mapping for *stay-green* in maize (*Zea mays*). *Canadian Journal of Plant Science*, 92 (2): 249-256.

Wang, G., He, Q.Q., Xu, Z.K and Song, R.T. (2012c). "High segregation distortion in maize B73 x teosinte crosses". *Genetic Molecular Research*, 11 (1): 693-706.

Wassom, J.J. (2013). "Quantitative trait loci for leaf angle, leaf width, leaf length, and plant height in a maize (*Zea mays* L.) B73 x Mo17 population". *Maydica*, 58: 318-321.

Wolyn, D.J., Borevitz, J.O., Loudet, O., Schwartz, C., Maloof, J., Ecker, J.R., Berry, C.C and Chory, J. (2004). "Light-Response Quantitative Trait Loci Identified with Composite Interval and extreme Array Mapping in *Arabidopsis thaliana*". *Genetics*, 167: 907-917.

Wu, J.W., Liu, C., Shi, Y.S., Song, Y.C., Chi, S.M., Ma, S.Y., Wang, T.Y and Li, Y. (2008). "QTL analysis of flowering related traits in maize under different water regimes". *Journal of Maize Science*, 16 (5): 61-65.

Xu, S. (2008). "Quantitative trait locus mapping can benefit from segregation distortion". *Genetics*, 180: 2201-2208.

Xu, Y., Skinner, D.J., Wu, H., Palacios-Rojas, N., Araus, J.L., Yan, J., Gao, S., Warburton, M.L and Crouch, J.H. (2009). "Advances in maize Genomics and their value for enhancing genetic

gains from breeding". International Journal of Plant Genomics, 2009, Article ID 957602: 1-30. doi:10.1155/2009/957602.

Yan, J.B., Tang, H., Huang, Y.Q., Zheng, Y.L and Li, J.S. (2003a). "Genetic analysis of segregation distortion of molecular markers in maize F₂ population". Yi Chuan Xue Bao, 10: 913-918.

Yan, J., Tang, H., Huang, Y., Shi, Y., Li, J and Zheng, Y. (2003b). "Dynamic analysis of QTL for plant height at different developmental stages in maize (*Zea mays* L.)". Chinese Science Bulletin, 48 (23): 2601-2607.

Yang, J., Zhu, J and Williams, R.W. (2007). "Mapping the genetic architecture of complex traits in experimental populations". Published by Oxford University Press, BIOINFORMATICS ORIGINAL PAPER, 23 (12): 1527-1536.

Yang, J., Hu, C., Hu, H., Yu, R., Xia, Z., Ye, X and Zhu, J. (2008). "QTL Network: mapping and visualizing genetic architecture of complex traits in experimental populations". Oxford University Press, BIOINFORMATICS APPLICATIONS NOTE, 24 (5): 721-723.

Yao, H., Zhou, Q., Li, J., Smith, H., Yandeu, M., Nikolau, B.J and Schnable, P.S. (2002). "Molecular characterization of meiotic recombination across the 140-kb multigenic *a1-sh2* interval of maize". Proceedings of the National Academy of Science, 99: 6157–6162.

Young, N.D. (1994). "Constructing a plant genetic linkage map with DNA markers". p. 39–57, In: I. K.V. Ronald & L. Phillips (Eds.), DNA-based markers in plants. Kluwer, Dordrecht/Boston/London.

Yu, Y.T., Zhang, J.M., Shi, Y.S., Song, Y.C., Wang, T.Y and Li, Y. (2006). "QTL analysis for plant height and leaf angle by using different populations of maize". Journal of maize Science, 14 (2): 88-92.

Yu, B.S., Lin, Z.G., Li, H.X., Li, X.J., Li, J.Y., *et al.*, (2007). "TAC1, a major quantitative trait locus controlling tiller angle in rice. Plant Journal, 52: 891-898.

Zeng, Z. (1993). "Theoretical basis for separation of multiple linked gene effects in mapping quantitative trait loci". Proceedings of the National Academy of Science, 90: 10972-10976.

Zeng, Z. (1994). "Precision mapping of quantitative trait loci". Genetics, 136: 1457-1468.

Zhang, F., Wan, X and Pan, G. (2006). "Genetic analysis of segregation distortion of molecular markers in maize F₂ Population". Acta Agronomica Sinica, 32 (9): 1391-1396.

Zhang, Z.M., Zhao, M.J., Ding, H.P., Ma, Y.Y., Rong, T.Z and Pan, G.T. (2007). "Analysis of the epistatic and QTL x environments interaction effects of plant height in maize (*Zea mays* L.)". International Journal of Plant Production, 2: 153-162.

Zhang, Y., Li, Y., Wang, Y., Liu, Z., Liu, C., Peng, B. Tan, W., Wang, D., Shi, Y., Sun, B., Song, Y., Wang, T and Li, Y. (2010a). "Stability of QTL across environments and QTL-by-environment interactions for plant an ear height in maize". *Agricultural Sciences in China*, 9 (10): 1400-1412.

Zhang, J., Ku, L.X., Zhang, W.Q and Chen, Y.H. (2010b). "QTL mapping of internodes length above upmost ear in maize". *Journal of Maize Science*, 18 (4): 45-48.

Zhang, J., Ku, L.X., Han, Z.P., Guo, S.L., Liu, H.J., Zhang, Z.Z., Cao, L.R., Cui, X.J and Chen, H. (2014a). "The *ZmCLA4* gene in the *qLA4-1* QTL controls leaf angle in maize (*Zea maize* L.)". *Journal of Experimental Botany*, 65 (17): 5063-5076.

Zheng, H.J., Wu, A.Z., Zheng, C.C., Wang, Y.F., Cai, R., Shen, X.F., Xu, R.R., Liu, P., Kong, L.J and Dong, S.T. (2009). "QTL mapping of maize (*Zea mays*) *stay-green* traits and their relationship to yield". *Plant Breeding*, 128 (1): 54-62.

Zheng, Z.P., Liu, X.H., Huang, Y.B., Wu, X., He, C and Li, Z. (2012). "QTLs for days to silking in a recombinant inbred line maize population subjected to high and low nitrogen regimes". *Genetics and Molecular Research*, 11 (2): 790-798.

Zheng, Z.P and Liu, X.H. (2013a). "Genetic analysis of agronomic traits associated with plant architecture by QTL mapping in maize". *Genetics and Molecular Research*, 12 (2): 1243-1253.

Zheng, Z.P and Liu, X.H. (2013b). "QTL identification of ear leaf morphometric traits under different nitrogen regimes in maize". *Genetics and Molecular Research*, 12 (4): 4342-4351.

Zhou, Z., Zhang, C., Zhou, Y., Hao, Z., Wang, Z., Zeng, X., Di, H., Li, M., Zhang, D., Yong, H., Zhang, S., Weng, J and Li, X. (2016). "Genetic Dissection of maize plant architecture with an ultra-high density bin map based on recombinant inbred lines". *BMC Genomics*, 17 (178): 1-15.

Zhu, X., Long, S.P and Ort, D.R. (2008). "What is the maximum efficiency with which photosynthesis can convert solar energy into biomass?". *Current opinión in Biotechnology*, 19: 153-159.

Zhu, L., Chen, J., Ding, L., Zhang, J., Huang, Y., Zhao, Y., Song, Z and Liu, Z. (2013). "QTL mapping for stalk related traits in maize (*Zea mays* L.) under different densities". *Journal of Integrative Agriculture*, 12 (2): 218-228.

Zimoyo, C and Bernardo, R. (2012). "Drought tolerance in maize: Indirect selection through secondary traits versus genomewide selection". *Crop Science*, 52: 1269-1275.

ANEXO I

PROTOCOLO DE EXTRACCION DE ADN (Kleinhofs *et al.*, 1993)

1. Colocar 50 mg de material liofilizado en microtubos de 2,0 ml.
2. Agregar 800,0 μ l de *buffer* de extracción (Anexo II, Tabla 38) a 65°C.
3. Incubar en baño de agua a 65°C durante 10 minutos.
4. Agregar 150,0 μ l de SDS (Dodecil Sulfato de Sodio, Promega, USA) y 150,0 μ l de CTAB (Bromuro de Hexadeciltrimetilamonio, Sigma, USA).
5. Incubar en baño de agua a 65°C durante 1 hora mezclando cada 10 minutos.
6. Agregar 750,0 μ l de Cloroformo (Cicarelli, Argentina).
7. Homogeneizar suavemente durante 10 minutos en bandeja de agitación.
8. Centrifugar a 12000 rpm durante 30 minutos a 4°C.
9. Extraer el sobrenadante y transferirlo a un microtubo de 1,5 ml.
10. Agregar 750,0 μ l cloroformo.
11. Mezclar durante 10 minutos en bandeja de agitación.
12. Centrifugar a 12000 rpm durante 30 minutos a 4°C.
13. Extraer el sobrenadante y transferir a otro microtubo de 1,5 ml.
14. Precipitar el ADN mediante el agregado de 600,0 μ l de isopropanol (Cicarelli, Argentina) frio.
15. Centrifugar durante 10 minutos a 12000 rpm a 4°C.
16. Descartar el sobrenadante.
17. Agregar 500,0 μ l de etanol 70% (v/v).
18. Centrifugar 10 minutos a 12000 rpm.
19. Descartar el sobrenadante.
20. Agregar 500,0 μ l de etanol 70% (v/v).
21. Secar el pellet.
22. Resuspender en 100,0 μ l de *buffer* TE 1X (Anexo II, Tabla 42).

ANEXO II

Tabla 35: Geles de agarosa utilizados para la cuantificación de las muestras de ADN.

Reactivo	Concentración	Marca
Agarosa	0,8% (p/v)	Promega, USA
Buffer TAE 1X		
Bromuro de etidio (10mg/ml)	5% (v/v)	Promega, USA

Tabla 36: Buffer TAE utilizado para el armado de los geles de agarosa.

Reactivo	Concentración	Marca
Tris Base	4,84 g.l ⁻¹	Cicarelli, Argentina
Ácido acético glacial	1,14 ml.l ⁻¹	Cicarelli, Argentina
EDTA 0,5 M pH 8,0	2,0 ml.l ⁻¹	Merck, Alemania

Tabla 37: Loading buffer utilizado para la siembra de las muestras de ADN en geles de agarosa.

Reactivo	Concentración	Marca
Azul de Bromofenol	0,0004 g.ml ⁻¹	Bio-Rad, USA
Glicerol (30%)	0,3 ml.ml ⁻¹	Merck, Alemania

Tabla 38: Buffer utilizado para la extracción de ADN genómico.

Reactivo	Concentración	Marca
Tris HCl 1,0 M pH 8,0	100,0 mM	Cicarelli, Arg
NaCl 5,0 M	700,0 mM	Cicarelli, Arg
EDTA 0,5 M pH 8,0	50,0 mM	Merck, Ale
SDS 20 %	2%	Promega, USA
CTAB 10 %	1%	Sigma, USA

Tabla 39: Geles de poliacrilamida utilizados para la separación de los fragmentos de amplificación.

Reactivo	Concentración	Marca
Urea	420,0 g.l ⁻¹	Cicarelli, Arg
Acrilamida	60,0 g.l ⁻¹	Merck, Ale
Bisacrilamida	3,0 g.l ⁻¹	Bio-Rad, USA
APS (10%)	4,7 ml.l ⁻¹	Promega, USA
TEMED	0,47 ml.l ⁻¹	Bio-Rad, USA

Tabla 40: *Buffer* TBE utilizado durante la electroforesis para la separación de los fragmentos de amplificación.

Reactivo	Concentración	Marca
Tris Base	10,8 g.l ⁻¹	Cicarelli, Arg
Ácido Bórico	5,5 g.l ⁻¹	Anedra Research AG, Arg
EDTA 0,5 M pH 8,0	4,0 ml.l ⁻¹	Merck

Tabla 41: Protocolo para el revelado de geles de poliacrilamida (Bassam *et al.*, 1991).

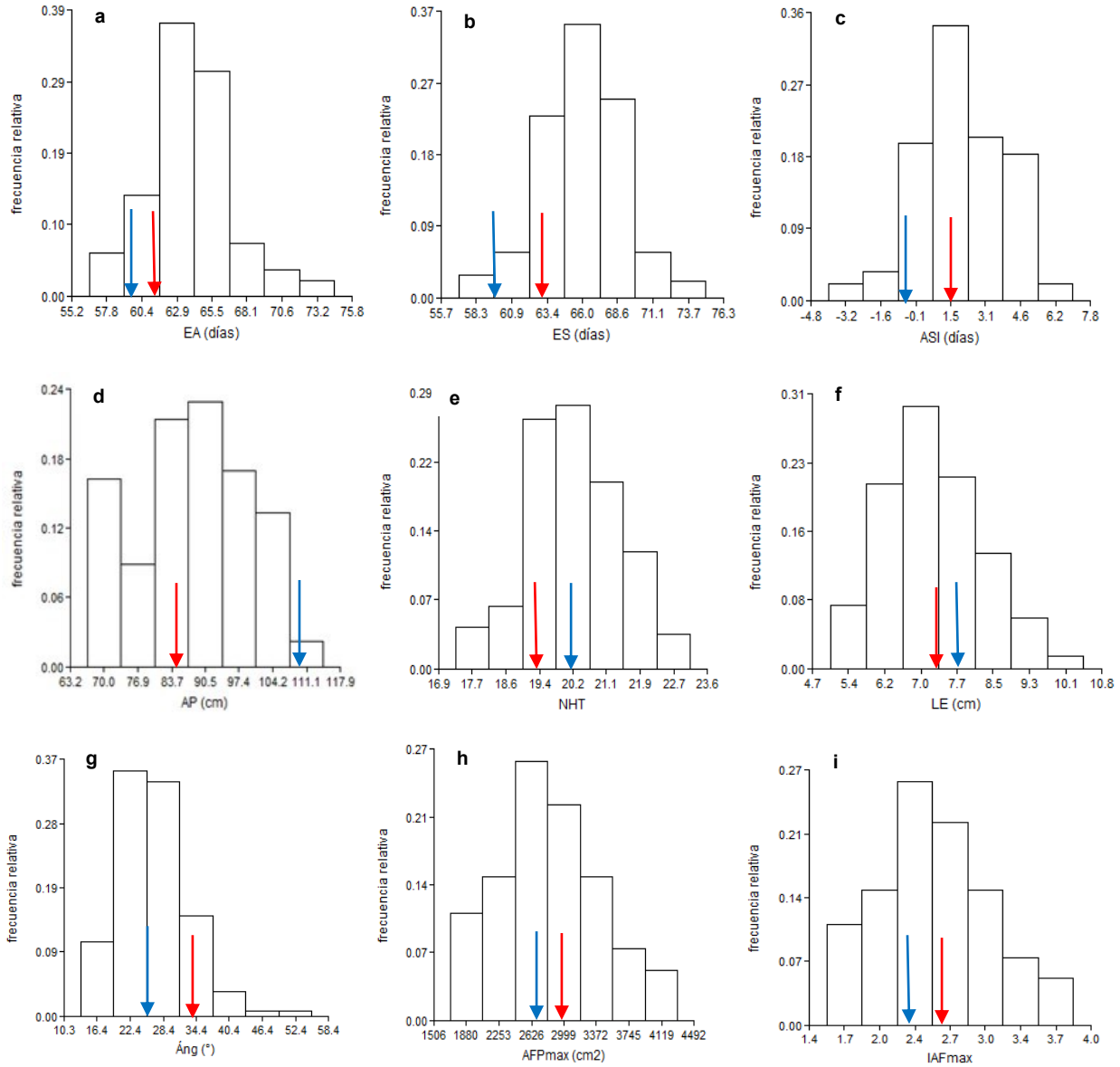
Etapas	Reactivo	Concentración	Tiempo
Fijación	Ácido acético (Cicarelli, Arg)	10% (v/v)	20 minutos
Enjuague	Agua bidestilada		6 minutos
Tinción	Nitrato de Plata (Merck, Ale) Formaldehido (Cicarelli, Arg)	1,0 g.l ⁻¹ 1,5 ml.l ⁻¹	30 minutos
Enjuague	Agua bidestilada		20 segundos
Revelado	Carbonato de Sodio (Merck, Ale) Formaldehido (Cicarelli, Arg) Tiosulfato de Sodio (buscar marca)	30 g.l ⁻¹ 1,5 ml.l ⁻¹ 2,0 mg.l ⁻¹	2-5 minutos
Detención	Ácido acético (Cicarelli, Arg)	10% (v/v)	5 minutos

Tabla 42: *Buffer* TE utilizado para la resuspensión del ADN luego de la extracción.

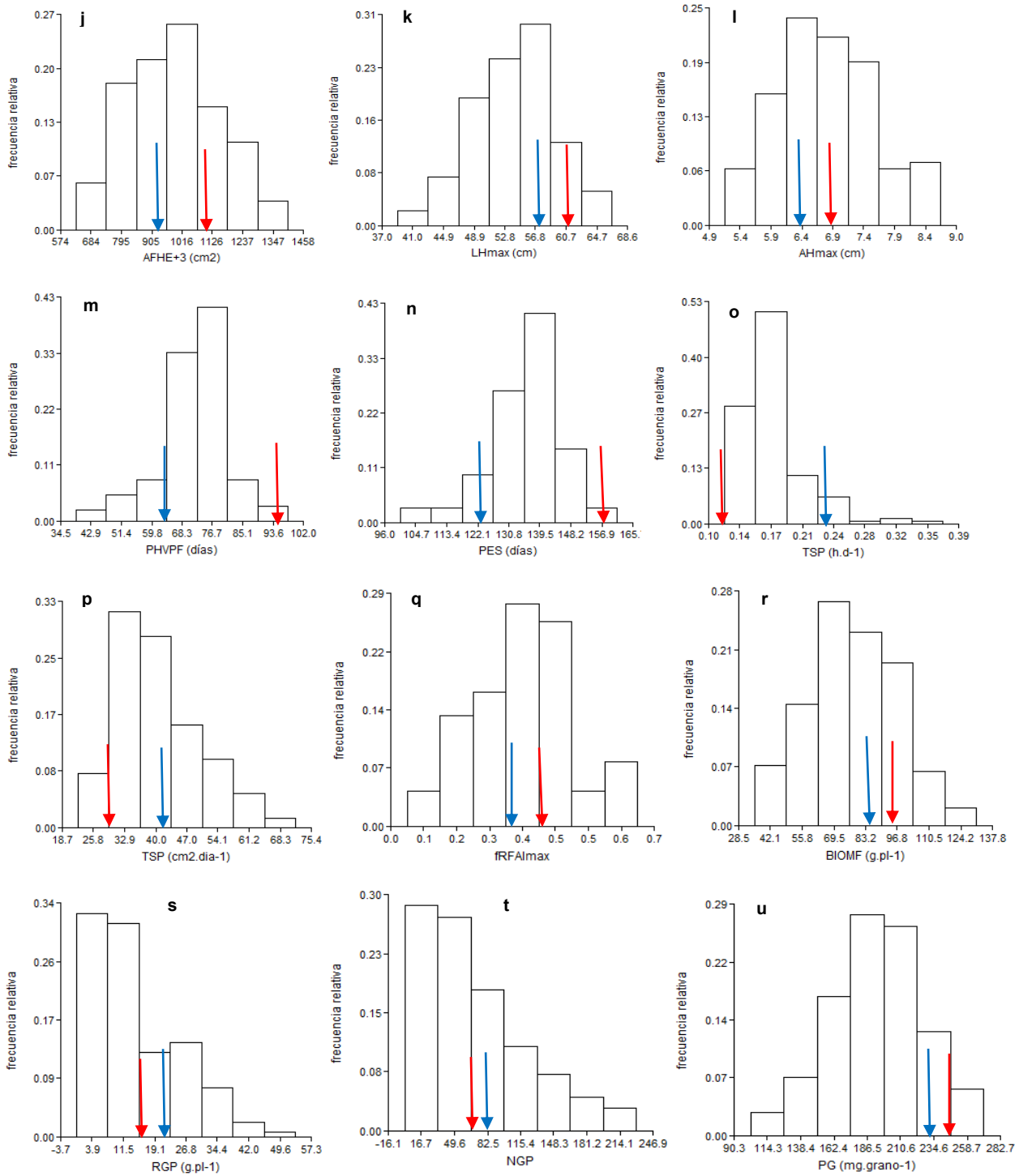
Reactivo	Concentración	Marca
Tris Base 1,0 M pH 8,0	10,0 ml.l ⁻¹	Cicarelli, Arg
EDTA 0,5 M pH 8,0	2,0 ml.l ⁻¹	Merck, Ale

ANEXO III

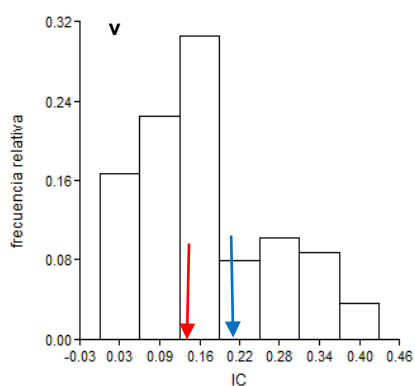
Figura 14: Histogramas de distribución fenotípica de los caracteres evaluados en el Exp1.



Continuación Figura 14.

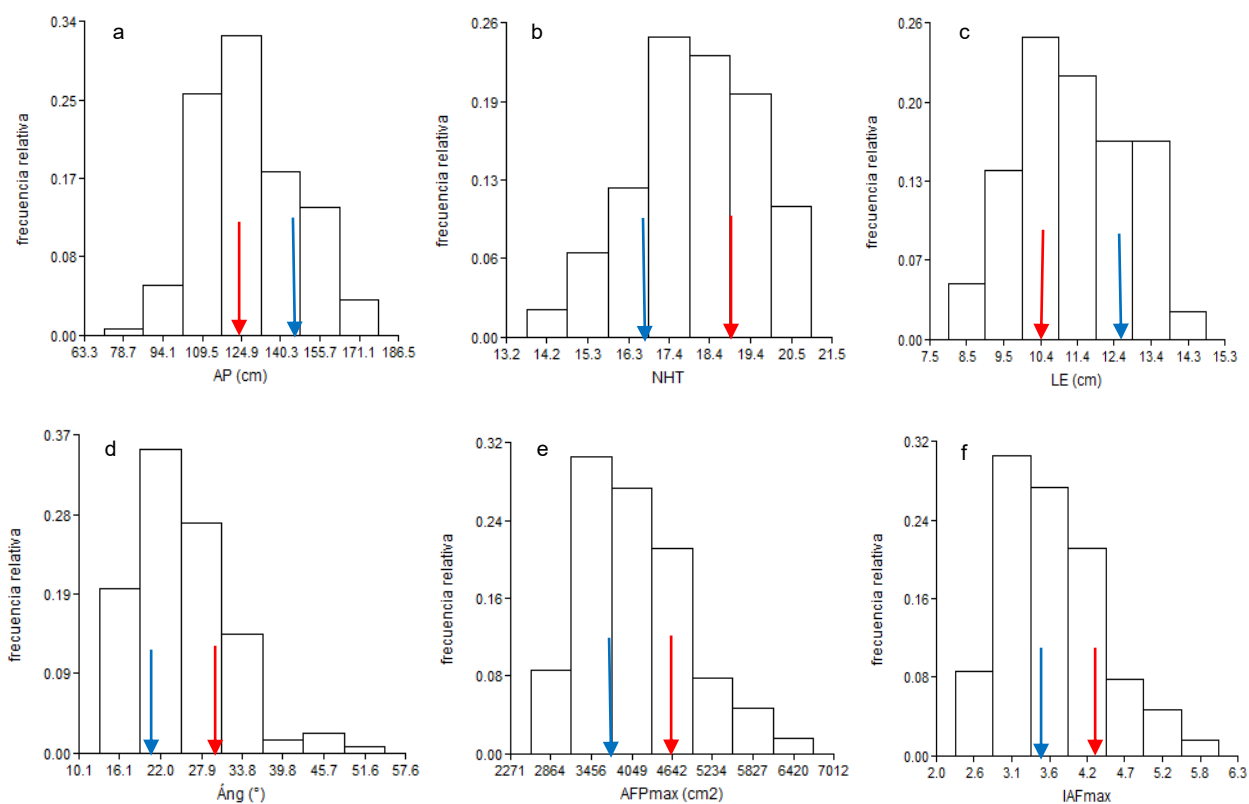


Continuación Figura 14.

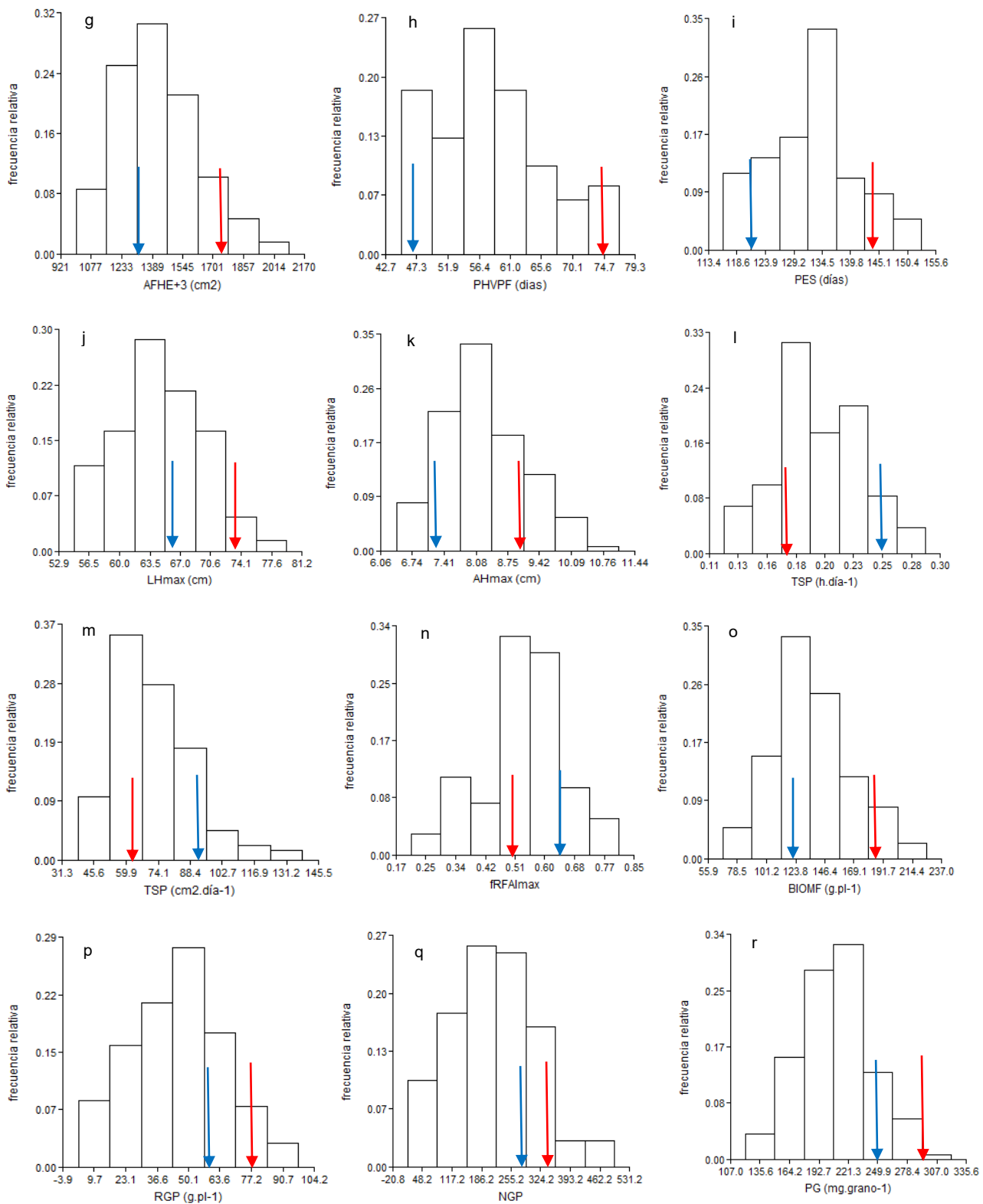


a: periodo emergencia-antesis; b: periodo emergencia-silking; c: ASI; d: altura de planta; e: número de hojas totales; f: longitud promedio de entrenudos; g: ángulo de inserción foliar; h: área foliar verde máximo; i: índice de área foliar verde máximo; j: área foliar de la hoja de la espiga más las tres superiores; k: longitud máxima de la hoja; l: ancho máximo de la hoja; m: persistencia de hojas verdes en postfloración; n: periodo emergencia-senescencia; o: tasa promedio de senescencia en postfloración ($\text{h}\cdot\text{dia}^{-1}$); p: tasa promedio de senescencia en postfloración ($\text{cm}^2\cdot\text{dia}^{-1}$); q: fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada; r: biomasa en madurez fisiológica; s: rendimiento en grano por planta; t: número de granos por planta; u: peso del grano; v: índice de cosecha. Flecha azul: valor medio de la línea parental L5605; Flecha roja: valor medio de la línea parental LP179.

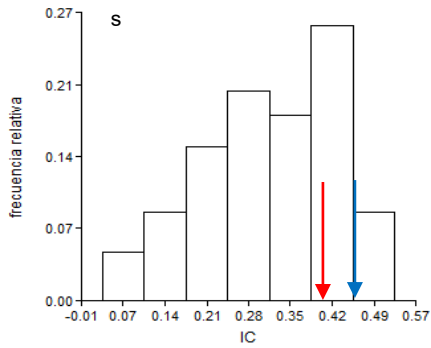
Figura 15: Histogramas de distribución fenotípica de los caracteres evaluados en el Exp2.



Continuación Figura 15.

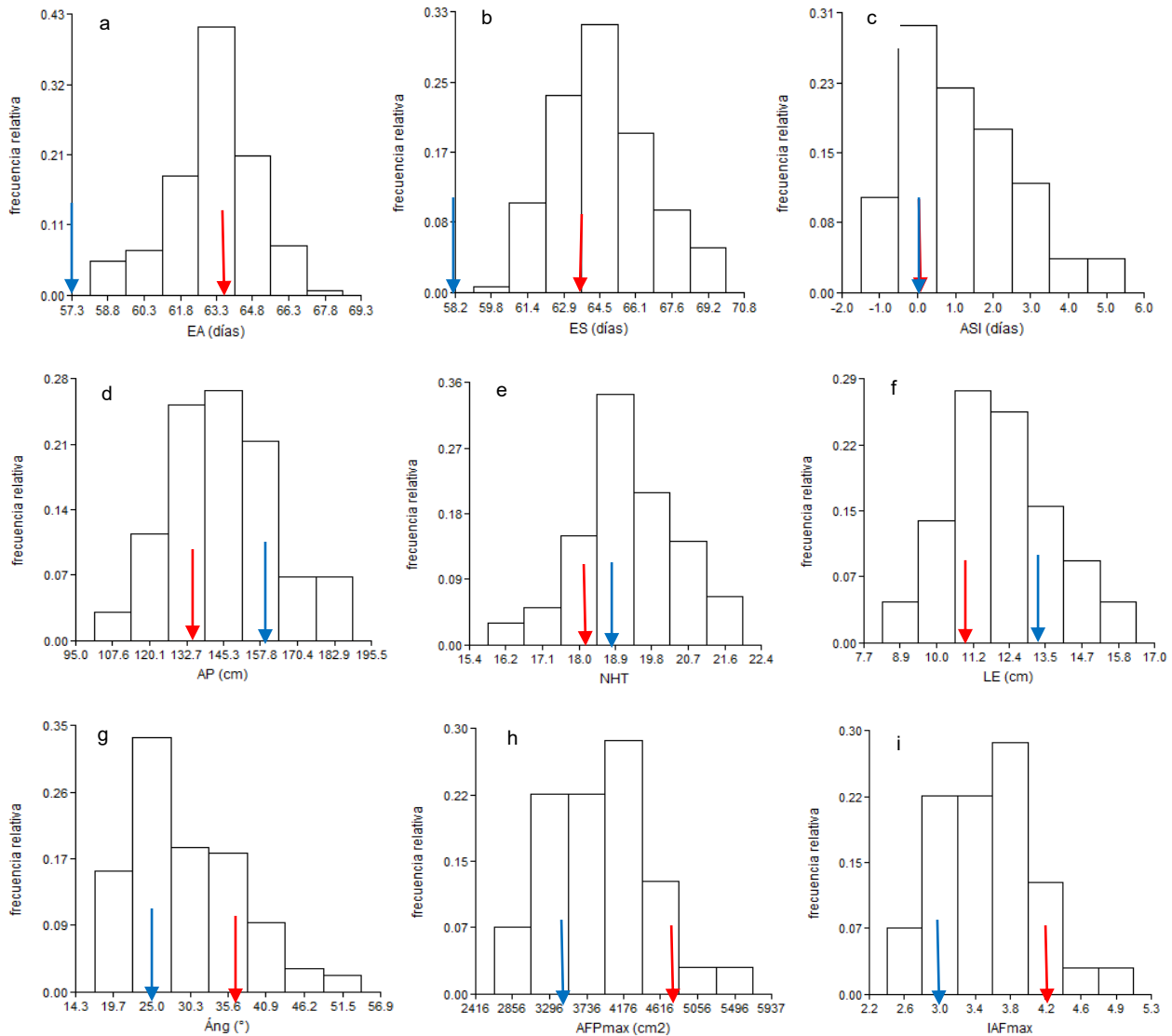


Continuación Figura 15.

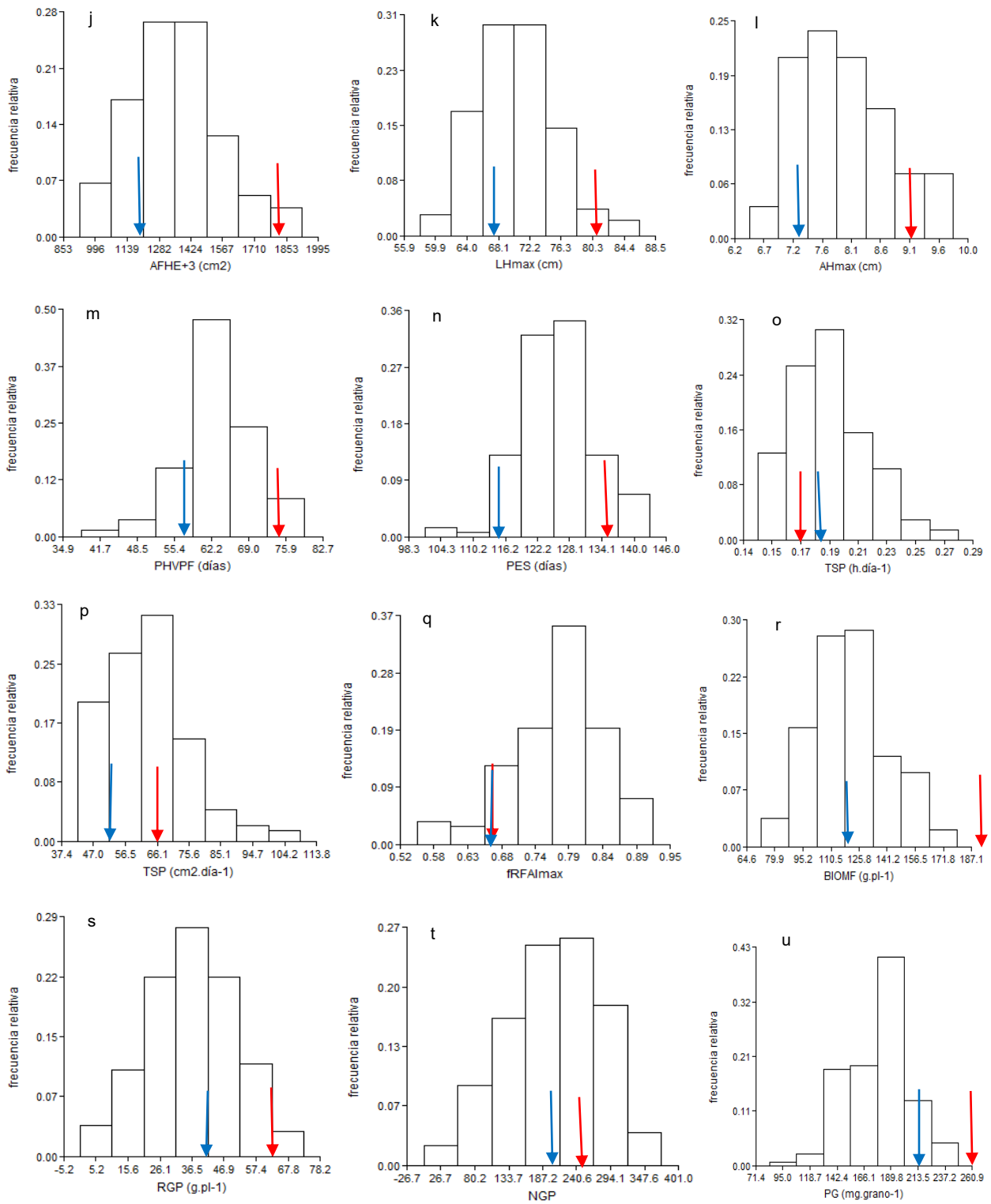


a: altura de planta; b: número de hojas totales; c: longitud promedio de entrenudos; d: ángulo de inserción foliar; e: área foliar verde máximo; f: índice de área foliar verde máximo; g: área foliar de la hoja de la espiga más las tres superiores; h: persistencia de hojas verdes en postfloración; i: periodo emergencia-senescencia; j: longitud máxima de la hoja; k: ancho máximo de la hoja; l: tasa promedio de senescencia en postfloración (h.día⁻¹); m: tasa promedio de senescencia en postfloración (cm².día⁻¹); n: fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada; o: biomasa en madurez fisiológica; p: rendimiento en grano por planta; q: número de granos por planta; r: peso del grano; s: índice de cosecha. Flecha azul: valor medio de la línea parental L5605; Flecha roja: valor medio de la línea parental LP179.

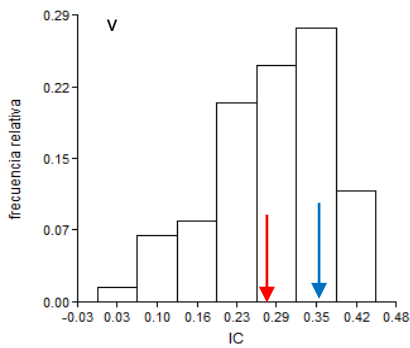
Figura 16: Histogramas de distribución fenotípica de los caracteres evaluados en el Exp3.



Continuación Figura 16.



Continuación Figura 16.



a: periodo emergencia-antesis; b: periodo emergencia-silking; c: ASI; d: altura de planta; e: número de hojas totales; f: longitud promedio de entrenudos; g: ángulo de inserción foliar; h: área foliar verde máximo; i: índice de área foliar verde máximo; j: área foliar de la hoja de la espiga más las tres superiores; k: longitud máxima de la hoja; l: ancho máximo de la hoja; m: persistencia de hojas verdes en postfloración; n: periodo emergencia-senescencia; o: tasa promedio de senescencia en postfloración (h.dia^{-1}); p: tasa promedio de senescencia en postfloración ($\text{cm}^2.\text{dia}^{-1}$); q: fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada; r: biomasa en madurez fisiológica; s: rendimiento en grano por planta; t: número de granos por planta; u: peso del grano; v: índice de cosecha. Flecha azul: valor medio de la línea parental L5605; Flecha roja: valor medio de la línea parental LP179.

ANEXO IV

Tabla 43: Marcadores SSR empleados para la construcción del mapa de ligamiento.

Bin	SSR	PM B73	Secuencia de oligonucleótidos	Repetición
1.01	<i>phi097</i>	100	F: 5' TGCTTCACATTCAGTCACCGTCAG 3' R: 5' CCACGACAGATGATTACCGACC 3'	TAG
1.01	<i>umc1363</i>	111	F: 5' TGTTTAAGTGTTGGCAGAAAGCAA 3' R: 5' TCTCCCTCCCCTGTACATGAATTA 3'	ACG
1.02	<i>umc2225</i>	223	F: 5' TCGGCTGACATAATAAAACCATAGC 3' R: 5' ATGCGAATTTTACCGGGTTTTT 3'	AG
1.03	<i>phi109275</i>	150	F: 5' CGGTTTCATGCTAGCTCTGC 3' R: 5' GTTGTGGCTGTGGTGGTG 3'	AGCT
1.03	<i>bnlg1866</i>	120	F: 5' CCCAGCGCATGTCAACTCT 3' F: 5' CCCC GGTAATTCAGTGGATA 3'	AG
1.04	<i>umc2390</i>	112	F: 5' GAAATGGCAGGGAAACTTGTTTAT 3' R: 5' AAGAGGCAAGCAAGTGTACAGTGA 3'	TAC
1.04	<i>bnlg2086</i>	199	F: 5' CGGAACCTGCTGCAGTTAAT 3' R: 5' GAGATGCAGGAATGGGAAAA 3'	AG
1.05	<i>umc2233</i>	302	F: 5' TTATTTACAGAAACCATGGCGTGC 3' R: 5' ACACCACGCTCTACCTCCTCCT 3'	GCC
1.06	<i>umc1812</i>	156	F: 5' TACAAGGAAGGCAAGTTCATCCTC 3' R: 5' ATGCAGGTGACATTCATCATCATC 3'	ACC
1.06	<i>bnlg2057</i>	160	F: 5' CAGCAGAACCTGTGGACAGA 3' F: 5' TGCATACTTGAGGATCGGAG 3'	AG
1.07	<i>bnlg615</i>	nd	F: 5' CTTCCCTCTCCCCATCTCCTTTCAA 3' F: 5' GCAACCTGTCCATTCTCACCAGAGGATT 3'	nd
1.07	<i>umc1706</i>	219	F: 5' ATCGAGAGGGGTAATAAGGACGA 3' R: 5' ACCAACCACGAGGCGATGTA 3'	TCG
1.07	<i>phi002</i>	78	F: 5' CATGCAATCAATAACGATGGCGAGT 3' R: 5' TTAGCGTAACCCTTCTCCAGTCAGC 3'	AACG
1.08	<i>mmc0041</i>	176	F: 5' AGGACTTAGAGAGGAAACGAA 3' R: 5' TTTATCCTTACTTGCAGTTGC 3'	CA
1.10	<i>bnlg1671</i>	140	F: 5' TCACGATCAGCAAGCAATTC 3' R: 5' CCCACCAACCTTAGAGTCA 3'	AG

Bin: ubicación cromosómica del marcador molecular; SSR: nombre del marcador molecular; PM B73: peso molecular del SSR en la línea B73; nd: no determinado.

Continuación Tabla 43.

Bin	SSR	PM B73	Secuencia de oligonucleótidos	Repetición
1.11	<i>phi064</i>	99	F: 5' CCGAATTGAAATAGCTGCGAGAACCT 3' R: 5' ACAATGAACGGTGGTTATCAACACGC 3'	ATCC
1.11	<i>phi120</i>	68	F: 5' GACTCTCACGGCGAGGTATGA 3' R: 5' TGATGTCCCAGCTCTGAACTGAC 3'	AAG
1.12	<i>umc1797</i>	107	F: 5' TCAAGTGAAATGCATAGCTTGCTC 3' R: 5' ACTGTTGGTAAACCCTGCATGACT 3'	AC
2.01	<i>umc2245</i>	130	F: 5' CGTCGTCTTCGACATGTA CTTCAC 3' R: 5' GCCCTGTTATTGGAACAGTTTACG 3'	CAA
2.02	<i>bnlg1302</i>	150	F: 5' GGATAATGGCATT TTTTAAACC 3' R: 5' TTGTTGGTGATAAAAAGGGGC 3'	AG
2.02	<i>bnlg1297</i>	200	F: 5' TCTCGATCGCTCCGATCTAT 3' R: 5' GACTCAACTCCAAAAGGCGA 3'	AG
2.02	<i>bnlg1017</i>	190	F: 5' ATTGGAAGGATCTGCGTGAC 3' R: 5' CAGCTGGTGGACTGCATCTA 3'	AG
2.03	<i>bnlg1064</i>	198	F: 5' CTGGTCCGAGATGATGGC 3' R: 5' TCCATTTCTGCATCTGCAAC 3'	AG
2.04	<i>umc1541</i>	149	F: 5' TGCAATCATTCTTCCATGTCTTGT 3' R: 5' GCACAATCTGCTGGTACTTCTTGA 3'	GCT
2.04	<i>bnlg1018</i>	124	F: 5' CGAGGTTAGCACCGACAAAT 3' R: 5' CGAGTAAATGCTCTGTGCCA 3'	AG
2.05	<i>bnlg1909</i>	172	F: 5' CCTGACCCTGTTCTGAAAA 3' R: 5' GTGTGTCTGGAGCTGTTCTGA 3'	AG
2.06	<i>nc003</i>	116	F: 5' ACCCTTGCCTTACTGAAACACAACAGG 3' F: 5' GCACACCGTGTGGCTGGTTC 3'	AG
2.06	<i>umc1028</i>	138	F: 5' CCCAGGTAAAATTCGCTAGCCT 3' R: 5' GGAACAAGGAAAGCTGAATACACG 3'	GA
2.06	<i>umc1749</i>	148	F: 5' CTTCA TTTTGTGTTTCCCTGCT 3' R: 5' CGTAAAAGACTGGATTGCCAAAAG 3'	GA
2.07	<i>bnlg1045</i>	202	F: 5' TCCCGATAGCATATCGATC 3' R: 5' GTGACTTTGGGGAGTTTGGGA 3'	AG
2.08	<i>bnlg1169</i>	233	F: 5' CTAAGCTAGACACGGCCCTG 3' R: 5' GATCTCGTCCCGATTTTCAA 3'	AG

Bin: ubicación cromosómica del marcador molecular; SSR: nombre del marcador molecular; PM B73: peso molecular del SSR en la línea B73; nd: no determinado.

Continuación Tabla 43.

Bin	SSR	PM B73	Secuencia de oligonucleótidos	Repetición
3.00	<i>umc2103</i>	158	F: 5' GTCCAGGAGGTTGTCGTCCA 3' R: 5' CCTATCCATGCTTGAGGTGTCG 3'	GCG
3.01	<i>umc2255</i>	114	F: 5' CTGCTGAGGAGAAGTGATCCTGTT 3' R: 5' GCTACGCTTAAGTATCACGGCAAC 3'	AGCA
3.03	<i>bnlg1325</i>	171	F: 5' CTAATGCGCAGCAGTAGCA 3' R: 5' TGCTCTGCAACAACCTTGAGG 3'	AG
3.04	<i>bnlg602</i>	141	F: 5' CCCGATAGCCAAGCTCTCGCCAA 3' R: 5' AGCTCGTGGACCGAACAAGCCCA 3'	AG
3.05	<i>bnlg1601</i>	218	F: 5' CAGACCAGAGACCATCTGCA 3' R: 5' ATCGTGCGCTAGTCCAGAGT 3'	AG
3.05-3.06	<i>umc1400</i>	168	F: 5' TTACCAATTGTATCCATCACACCG 3' R: 5' ACAACATAGCAGCCATCCTACTCG 3'	TTTG
3.06	<i>umc1266</i>	144	F: 5' CACAGGTAAGTAACGCACACG 3' R: 5' CTCGTCAATTTCAACGTCCTCTTT 3'	CAG
3.06-3.07	<i>umc2381</i>	143	F: 5' AGTCCGGCTAGCTCCATAAAGG 3' R: 5' GTTCAACAAGGAGCAGCGAGAC 3'	CAGC
3.08	<i>bnlg1108</i>	137	F: 5' GGATTCCTTTATGACGGGGT 3' R: 5' AGTAACAACCAAGGCATCGG 3'	AG
3.09	<i>bnlg1754</i>	170	F: 5' ATAGGGATCGACCCGTTCTG 3' R: 5' AATATCTCCGATCCACCAACAAAA 3'	AG
4.03	<i>umc2281</i>	153	F: 5' ATGATGATCTGCAGAGCCTAGTCC 3' R: 5' CAATGATTGGAGCCTAACCCT 3'	GTCC
4.05	<i>phi026</i>	80	F: 5' TAATTCCTCGCTCCCGGATTCAGC 3' R: 5' GTGCATGAGGGAGCAGCAGGTAGTG 3'	CT
4.06	<i>bnlg1137</i>	246	F: 5' ATGAGCTCAGTCACACTGTAGTG 3' R: 5' ACTGATGACTGGTCCATGCA 3'	AG
4.07	<i>dupssr34</i>	157	F: 5' TCAGTGCTTTTCATTGTAACGA 3' R: 5' ATAAACATCTTGCCAGCAAA 3'	TTG
4.08	<i>bnlg1444</i>	153	F: 5' GCATGGATGGAGAAAGAGGA 3' R: 5' AGACGACGAAGCTTTTTGCAT 3'	AG
4.09	<i>umc2138</i>	221	F: 5' CGGGACAAGGACAGAGCAAG 3' R: 5' CAGGGTAAAGCTAGACGGGTAGGTA 3'	ACC
4.11	<i>umc1058</i>	103	F: 5' AGCAAGCAGTTCGAAACAAGGAT 3' R: 5' GACACCAGCACCCTTGAACG 3'	GC

Bin: ubicación cromosómica del marcador molecular; SSR: nombre del marcador molecular; PM B73: peso molecular del SSR en la línea B73; nd: no determinado.

Continuación Tabla 43.

Bin	SSR	PM B73	Secuencia de oligonucleótidos	Repetición
5.00	<i>bnlg1006</i>	232	F: 5' GACCAGCGTGTGATCCC 3' R: 5' GGAGACCCCGACTCTCTCTC 3'	AG
5.01	<i>umc1523</i>	105	F: 5' TTTTAACTGTAACCGGCCACATT 3' R: 5' AGAGTTAGATGACTGCAGTGGCTG 3'	AAG
5.02	<i>umc1587</i>	143	F: 5' ATGCGTCTTTCACAAAGCATTACA 3' R: 5' AGGTGCAGTTCATAGACTTCCTGG 3'	AT
5.03	<i>bnlg1700</i>	206	F: 5' GTCACATCCATGTAGTGCACG 3' R: 5' GGCACCCTTTTGAACCTTT 3'	AG
5.05	<i>bnlg278</i>	87	F: 5' CATGCATCAACGTAACCTCCCT 3' R: 5' CATGTCACGCGTTCCACTTG 3'	nd
5.06	<i>umc1680</i>	152	F: 5' TTAATAAAGGAGAGGGTGGGAACC 3' R: 5' GGGGCTTATATGTCCCTTGAACTC 3'	TC
5.07	<i>bnlg2305</i>	183	F: 5' CACCTTGAAAGCATCCTCGT 3' R: 5' GTATCACACCCTCTGCTGCA 3'	AG
5.07	<i>bnlg1885</i>	245	F: 5' GACAGACGCAACTACCGAAA 3' R: 5' TGTTCAATTTGATGTTTCATTGC 3'	AG
5.08	<i>umc2136</i>	151	F: 5' GATTCGGAGGTGATCTGACCTGT 3' R: 5' CCAGATGCGGAAGTAGACGG 3'	CCT
5.09	<i>bnlg386</i>	nd	F: 5' CACCCTCCCTTTGCAGGTA 3' R: 5' TGGTTTATCAGATAACGATTCAGC 3'	nd
6.00	<i>bnlg238</i>	165	F: 5' CTTATTGCTTTCGTCATACACACACATTCAT 3' R: 5' GAGCATGAGCTTGCATATTTCTTGTGG 3'	nd
6.00	<i>bnlg161</i>	163	F: 5' ATGGAGCATGAGCTTGCATATTT 3' R: 5' GCTTTCGTCATACACACACATTCA 3'	nd
6.01	<i>bnlg426</i>	114	F: 5' TGCATTAATTAGAAGGCTATCAAA 3' R: 5' GGTTTGGTACTGGACTGACTT 3'	AG
6.03	<i>phi389203</i>	309	F: 5' GACGAAAAGGTGGCTCGT 3' R: 5' TGCAGTCCTAGATCAGTTCCAA 3'	AGC
6.04	<i>nc009</i>	113	F: 5' CGAAAGTCGATCGAGAGACC 3' R: 5' CCTCTCTTCACCCCTTCCTT 3'	AG
6.05	<i>umc2055</i>	81	F: 5' CTTGGCTGCTTGCCCTATTAGAT 3' R: 5' CTCTGGTCTGGTGGTCTCTGTG 3'	AG
6.04	<i>phi452693</i>	nd	F: 5' CAAGTGCTCCGAGATCTTCCA 3' R: 5' CGCGAACATATTCAGAAGTTTG 3'	AGCC
6.05	<i>bnlg1443</i>	180	F: 5' TACCGGAATCCTCTTTGGTG 3' R: 5' TTTGACAACCTCTTCCAGGG 3'	AG

Bin: ubicación cromosómica del marcador molecular; SSR: nombre del marcador molecular; PM B73: peso molecular del SSR en la línea B73; nd: no determinado.

Continuación Tabla 43.

Bin	SSR	PM B73	Secuencia de oligonucleótidos	Repetición
6.05	<i>bnlg1702</i>	nd	F: 5' TTATCATCAAATGGAGGACACG 3' R: 5' AAAGACACACGCTAATGGGC 3'	AG
6.05	<i>nc013</i>	121	F: 5' AATGGTTTTGAGGATGCAGCGTGG 3' R: 5' CCCCGTGATTCCCTTCAACTTTC 3'	AG
6.06	<i>umc2375</i>	144	F: 5' TCTGACATTGTCCTCTTGACCAA 3' R: 5' GCCGTACTGATGTGATGGTCC 3'	GCG
6.06	<i>bnlg345</i>	123	F: 5' CGAAGCTAGATGTAGAAACTCTCT 3' R: 5' CTTACCAACCAACTCCCAT 3'	AG
6.07	<i>umc2323</i>	150	F: 5' TTCCCTATCAACTTCCATCCTGAA 3' R: 5' ATCTGAAGCCAAGTGTTCATTG 3'	GCA
6.07	<i>bnlg1136</i>	208	F: 5' CATCAGCTTCAACGAGTTCG 3' R: 5' TAACCGGATGAGCATCTTCC 3'	AG
6.08	<i>umc1127</i>	158	F: 5' GGTCCAGTGACATCTCAAATGAA 3' R: 5' ATATCCCCCTCCCTAATTTTGCT 3'	CT
7.02-7.03	<i>dupssr9</i>	139	F: 5' GATGTCGTGTGAGTGACCTG 3' R: 5' GTGTTGCTATTGCAGTGAGAC 3'	AC
7.03	<i>bnlg1070</i>	213	F: 5' TTCCAGTAAGGGAGGTGCTG 3' R: 5' TAAGCAACATATAGCCGGGC 3'	AG
7.04	<i>umc2330</i>	nd	F: 5' AAGAAGTGCAAAAGGTACCCACA 3' R: 5' CGGTGAGTGAGTGAGTGAGTGAGT 3'	GA
7.04	<i>bnlg2259</i>	167	F: 5' ACCATTGATTTTCATGGTATTGG 3' R: 5' GCGGATAATGACATTGGGTC 3'	AG
7.05	<i>phi082</i>	125	F: 5' CACAGCACAGGCAGTTCG 3' R: 5' CGCGGCAAAAGATCTTGAACACCT 3'	AG
7.05	<i>umc2333</i>	145	F: 5' TGCCTCCTTTTTCTGATCTACACC 3' R: 5' GAATTGGATGTTATTCGGATCGTC 3'	CCGT
7.06	<i>umc2190</i>	156	F: 5' GATCCGTTGAGGTCGATCCTTT 3' R: 5' GAGGAGTTCCTGCAGTTTCTTGAC 3'	CCT
7.06	<i>umc1799</i>	101	F: 5' GTGATGAATAATGTCCCAATTCC 3' R: 5' GGACAGATGTCTGGAGATTGCTTT 3'	TG
8.01	<i>bnlg2037</i>	190	F: 5' GGGTGCTCGTAGTAGGGGTT 3' R: 5' CTAAGGCACACGGAGAGAGG 3'	AG
8.02	<i>phi119</i>	164	F: 5' GGGCTCCAGTTTTTCAGTCATTGG 3' R: 5' ATCTTTCGTGCGGAGGAATGGTCA 3'	AG

Bin: ubicación cromosómica del marcador molecular; SSR: nombre del marcador molecular; PM B73: peso molecular del SSR en la línea B73; nd: no determinado.

Continuación Tabla 43.

Bin	SSR	PM B73	Secuencia de oligonucleótidos	Repetición
8.03	<i>bnlg669</i>	126	F: 5' GCACGCACCAGCAGTCGGCAGT 3' R: 5' CGGCCTAGTGGGCATGGAGCCT 3'	nd
8.04	<i>phi014</i>	160	F: 5' AGATGACCAGGGCCGTCAACGAC 3' R: 5' CCAGCTTCACCAGCTTGCTCTTCGTG 3'	GGC
8.05	<i>bnlg666</i>	116	F: 5' AAAAGGCAAGTAGCTAGCATGCATTTGCAG 3' F: 5' GGCTCACGTCCGTATCCAAACCAACA 3'	nd
8.06	<i>bnlg1782</i>	222	F: 5' CGATGCTCCGCTAGGAATAG 3' R: 5' TGTGTTGGAAATTGACCCAA 3'	AG
8.07	<i>bnlg1823</i>	181	F: 5' TGTGACTCCATACCGCACAT 3' R: 5' CTCATCATGTTGTACATGGCG 3'	AG
8.08	<i>phi015</i>	96	F: 5' ACGCTGCATTCAATTACCGGAAG 3' R: 5' GCAACGTACCGTACCTTTCCGA 3'	AAAC
8.08	<i>umc2357</i>	125	F: 5' AGCTCCCTCAGGTAGTTGTCTG 3' R: 5' GAGCAAGAAGCAGAGCAGCAAG 3'	GAGCCA
8.09	<i>dupssr14</i>	105	F: 5' AGCAGGTACCACAATGGAG 3' R: 5' GTGTACATCAAGGTCCAGATTT 3'	(CT)T(CT)(CA)
9.01	<i>bnlg1724</i>	155	F: 5' CTGACCCAGAGCATTGTGAA 3' R: 5' GATGAAGAGCTTGCAGTCCC 3'	AG
9.02	<i>umc1170</i>	151	F: 5' TGGGTGCTAAAACGTAACAACAAA 3' R: 5' GAGGACGAAGCAGAAATCCTACC 3'	TC
9.03	<i>umc1691</i>	138	F: 5' TCGTCTAAACTGCATAAAAGGGGA 3' R: 5' ACGGAGATAGATGCACACAAACAC 3'	AG
9.04	<i>umc1700</i>	89	F: 5' AACGTAGGTAGGGTTTGGATTTCA 3' R: 5' ACATGATGCTTGTTCCTTTTACA 3'	TAG
9.04	<i>bnlg1626</i>	197	F: 5' TTAAATCCAGAGTGTCCCG 3' R: 5' TTCTGGATGGTTGCACACAT 3'	AG
10.02	<i>bnlg1451</i>	nd	F: 5' TGATCGATGGCTCAATCAGT 3' R: 5' ATCTGGAACACCGTCGTCTC 3'	AG
10.03	<i>phi050</i>	87	F: 5' TAACATGCCAGACACATACGGACAG 3' R: 5' ATGGCTCTAGCGAAGCGTAGAG 3'	AAGC
10.03	<i>bnlg1079</i>	179	F: 5' CGTACGTCGTTGCTGTCTGT 3' R: 5' CAGTACGTGCAGTCCCTCCT 3'	AG
10.05	<i>umc1506</i>	129	F: 5' AAAAGAAACATGTTTCAGTCGAGCG 3' R: 5' ATAAAGGTTGGCAAACGTAGCCT 3'	AAAC
10.06	<i>bnlg2190</i>	235	F: 5' TCCTCCTTCATCCCCTTCTT 3' R: 5' CCCAGTATCATTGCCCAATC 3'	AG

Bin: ubicación cromosómica del marcador molecular; SSR: nombre del marcador molecular; PM B73: peso molecular del SSR en la línea B73; nd: no determinado.

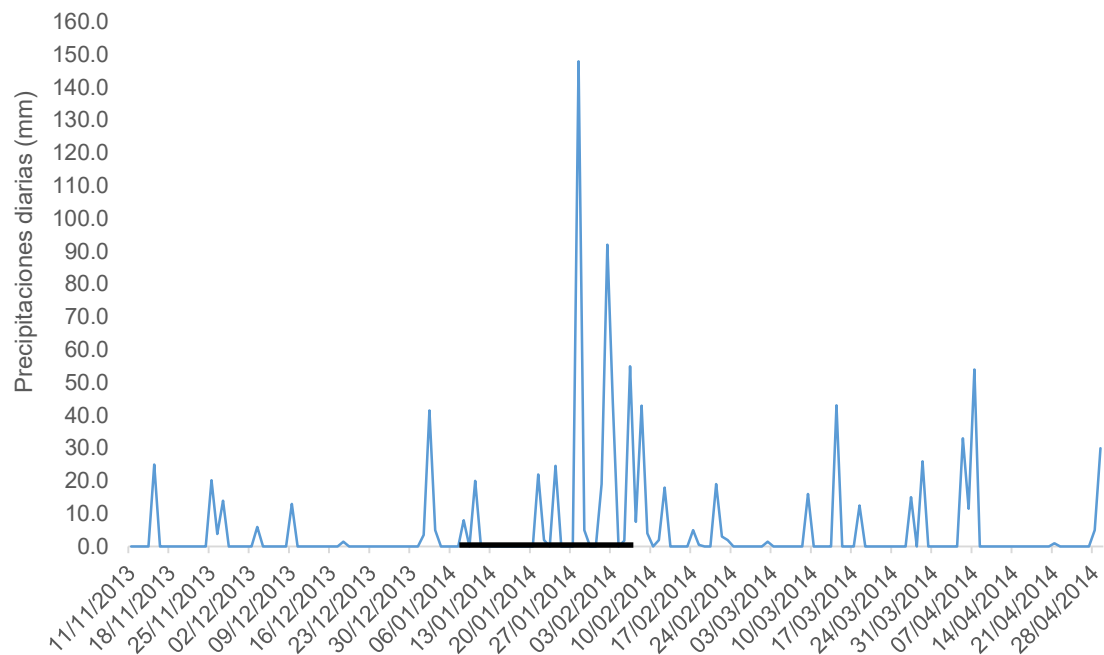
Continuación Tabla 43.

Bin	SSR	PM B73	Secuencia de oligonucleótidos	Repetición
10.07	<i>bnlg1185</i>	136	F: 5' CGGTCCAGGCAGGTTAATTA 3' R: 5' GACTCGAGGACACCGATTTTC 3'	AG
10.07	<i>bnlg1839</i>	176	F: 5' AGCAGACGGAGGAAACAAGA 3' R: 5' TCTCCCTCTCCCTCTTGACA 3'	AG

Bin: ubicación cromosómica del marcador molecular; SSR: nombre del marcador molecular; PM B73: peso molecular del SSR en la línea B73; nd: no determinado.

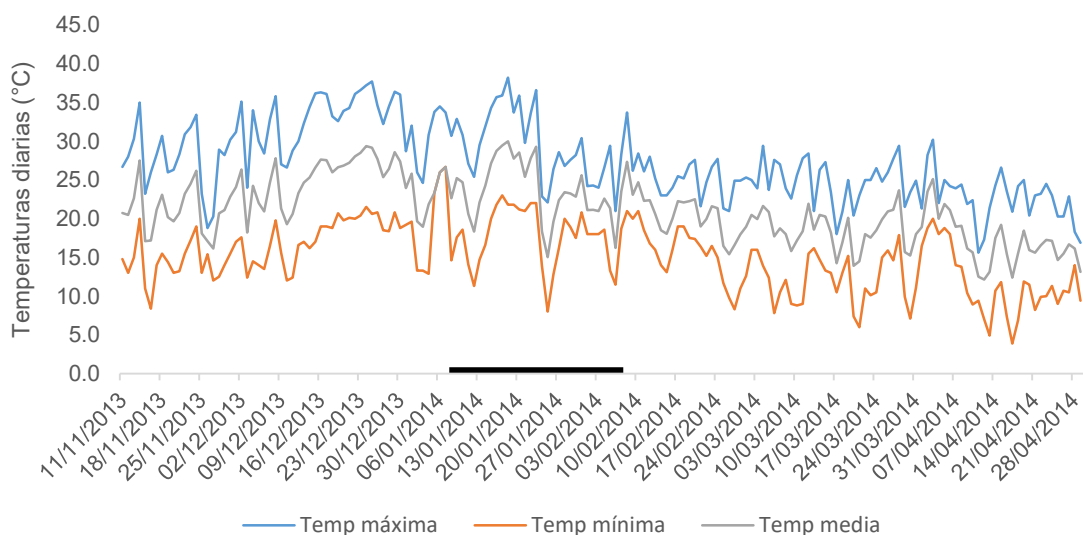
ANEXO V

Figura 17: Precipitaciones diarias a lo largo del ciclo de cultivo del Exp1.



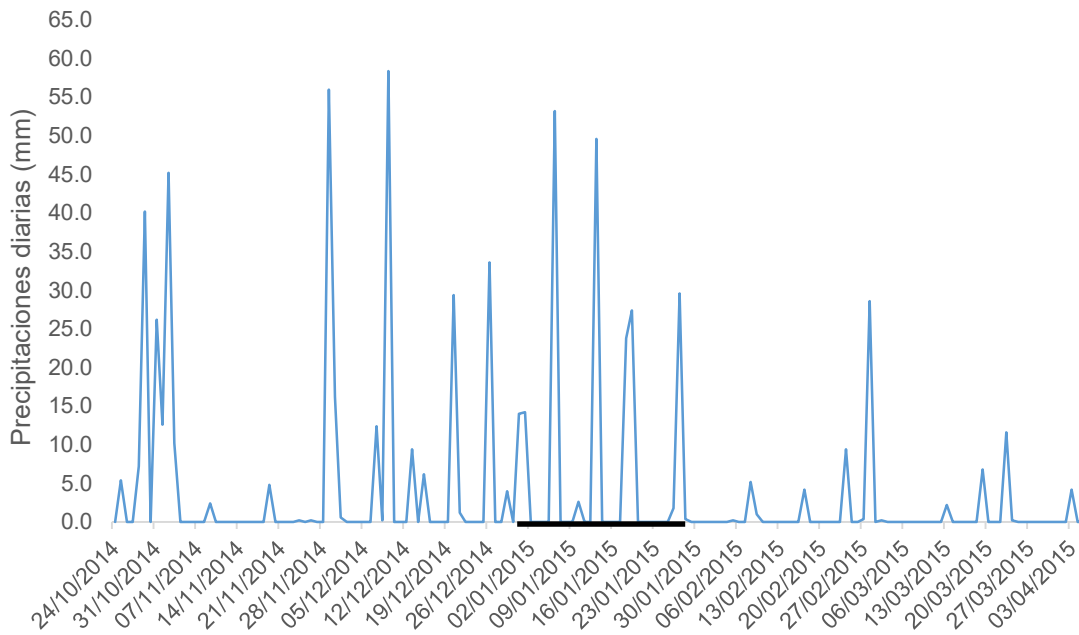
La línea negra marca el intervalo de tiempo correspondiente al periodo crítico. Las fechas se muestran cada un intervalo de siete días.

Figura 18: Variación de la temperatura máxima, media y mínima durante el Exp1.



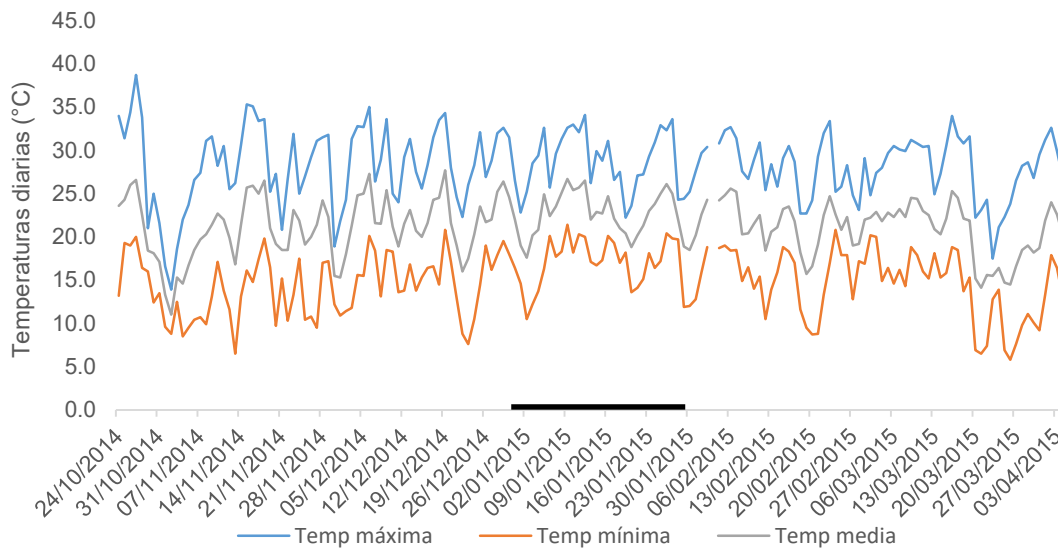
La línea negra marca el intervalo de tiempo correspondiente al periodo crítico. Las fechas se muestran cada un intervalo de siete días.

Figura 19: Precipitaciones diarias a lo largo del ciclo de cultivo del Exp2.



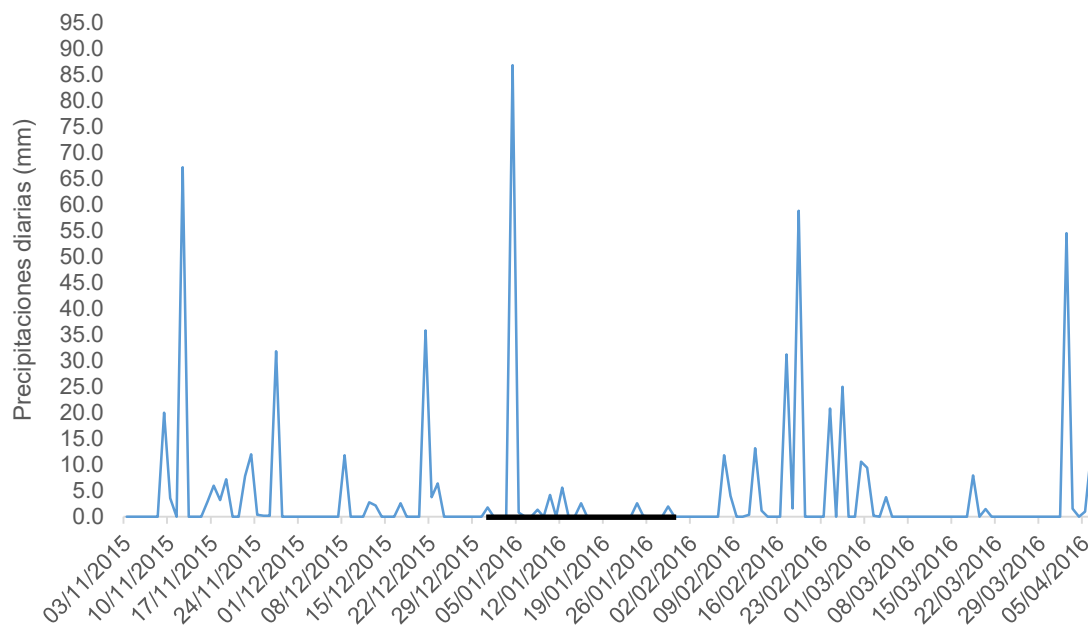
La línea negra marca el intervalo de tiempo correspondiente al periodo crítico. Las fechas se muestran cada un intervalo de siete días.

Figura 20: Variación de la temperatura máxima, media y mínima durante el Exp2.



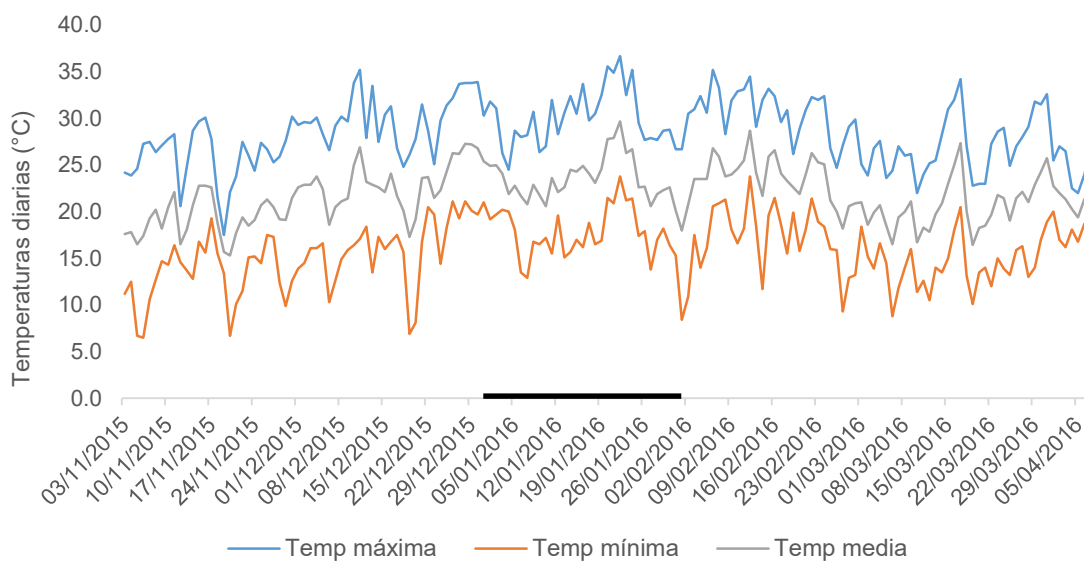
La línea negra marca el intervalo de tiempo correspondiente al periodo crítico. Las fechas se muestran cada un intervalo de siete días.

Figura 21: Precipitaciones diarias a lo largo del ciclo de cultivo del Exp3.



La línea negra marca el intervalo de tiempo correspondiente al periodo crítico. Las fechas se muestran cada un intervalo de siete días.

Figura 22: Variación de la temperatura máxima, media y mínima durante el Exp3.



La línea negra marca el intervalo de tiempo correspondiente al periodo crítico. Las fechas se muestran cada un intervalo de siete días.