

Efectos genéticos de la formación de calosa en ápices radicales de líneas de maíz resistentes y susceptibles a suelos ácidos

Genetic effects in callose content in root apex of inbred resistant and susceptible corn lines to acid soils

Alba Lucía Arcos,¹ Luis Alberto Narro,² Fredy Salazar,³ Creuci Caetano⁴

¹⁻³Cimmyt. A.A. 6713. Recta Cali-Palmira. alarcos@cgiar.org ⁴Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia. A.A. 237 Palmira, Valle del Cauca.

REC: 12-09-07. ACCEPT.: 15-11-07

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue estudiar la herencia de la producción de calosa utilizando líneas endogámicas de maíz. Seleccionando 14 líneas (7 tolerantes y 7 susceptibles a suelos ácidos) se formó un diallelo que fue probado en campo y en invernadero. Se determinó el contenido de calosa en los 91 cruzamientos resultantes y los 14 progenitores. Para ello se colocaron las semillas en cámara de crecimiento en condiciones controladas. Después de 4-5 días las plántulas fueron transferidas a cubetas que contenían solución nutritiva con aireación constante. Luego de 48 horas se adicionaron 25 μM de aluminio (AlCl_3) a cada una de las cubetas y se mantuvieron por 12 horas. Se cortaron tres ápices radicales de cada genotipo y se mantuvieron en etanol 96%. Para medir el contenido de calosa se utilizó Methyl blue como colorante, este forma un complejo con la calosa llamado Siruflúor-calosa, que es medido con el espectrofotómetro de fluorescencia. Se encontraron diferencias significativas para los progenitores, los cruzamientos y los progenitores Vs cruzamientos. El contenido de calosa de los progenitores varió de 0.746 a 2.035 $\mu\text{g PE/cm}$ ápice de raíz. La heterosis varió desde -21.2% a 276.3%. La Habilidad Combinatoria General (HCG) y la Habilidad Combinatoria Específica (HCE) fueron altamente significativas, lo que indica que tanto los efectos genéticos aditivos y no aditivos fueron importantes en la herencia de calosa. El 46% de SC entre cruzamientos correspondió a la HCG y el 54% a la HCE. El coeficiente de correlación entre el contenido de calosa y la producción de grano del maíz en el campo fue negativo aunque no significativo ($r = -0.38$).

Palabras claves: *Zea mays*; calosa; heredabilidad; diallelo; heterosis; suelos ácidos.

ABSTRACT

The main objective of this work was to identify genetic parameters that are related to callose accumulation using tropical inbreds corn. Fourteen inbred lines selected for different levels of tolerance to acid soils were chosen and a diallel among them was generated. The seeds were grown under controlled environmental conditions in a growth chamber and transferred to a nutrient solution at pH 4.3. After 12 hours of 25 μM Al (AlCl_3) treatment was applied, callose contents of 1 cm root apex were determined with fluorescence spectrophotometer. Significant differences were found for parents, crosses and parents vs crosses. Average callose content varied from 0.746 to 2.035 ($\mu\text{g PE/cm}$ root apex). Heterosis varied from -21.2% to 276.3%. General combining ability (GCA) and specific combining ability (SCA) were highly significant indicating that both, additive and non-additive gene effects were important for callose inheritance. SCA and GCA sum of squares accounted for 54% and 46%, respectively of crosses of squares sum. Correlation coefficient between callose content and corn grain yield in the field was negative but not significant ($r = -0.38$).

Key word: *Zea mays*; callose; inheritance; diallel; heterosis; acid soils.

INTRODUCCIÓN

La formación del polisacárido calosa (1 β -D-glucano) en las paredes celulares de los ápices radicales de maíz como respuesta a la toxicidad por Al^{3+} es un excelente indicador del daño por Al. Se puede utilizar como

marcador fisiológico^{2,5,10} y es mejor criterio de selección de cultivares que la inhibición de la longitud radica. En maíz se ha identificado considerable variación genética para resistencia al Al y para la respuesta de adaptación de genotipos a suelos ácidos, y se ha reportado herencia

cuantitativa^{7,14,20,21,25} y cualitativa^{13,23,4,1,16} Con relación al contenido de calosa un estudio con 15 variedades de libre polinización y sus cruzamientos arrojó diferencias significativas para habilidad combinatoria general (HCG) pero no para habilidad combinatoria específica (HCE) y una correlación de Pearson significativa entre contenido de calosa y rendimiento de grano.⁵

Los objetivos del presente estudio fueron determinar los parámetros genéticos relacionados con la resistencia al Al, tomando como criterio la formación de calosa en los ápices radicales y determinar la relación entre el contenido de calosa y el rendimiento de grano en campo utilizando 14 líneas de maíz seleccionadas por resistencia o susceptibilidad a suelos ácidos.

MATERIALES Y MÉTODOS

La parte de campo de este estudio se llevó a cabo en Corpoica La Libertad (Villavicencio), y lo que concierne a invernadero y laboratorio en las instalaciones del CIAT en Palmira (Tabla 1).

Tabla 1. Localización geográfica y características ambientales de la investigación.

Ambiente	Latitud Norte	Longitud Oeste	Altitud m.s.n.m	pH	P ppm	Saturación Al %
Villavicencio	4°06'	73°29'	400	4.8	10.6	68.3
Palmira	3°30'	76°19'	965	7.1	90.9	<1

Es importante resaltar que la línea 1 (progenitor 7) y la línea 2 (progenitor 14) se derivaron de dos poblaciones heteróticas del Cimmyt tolerantes a suelos ácidos (poblaciones SA5 y SA4, respectivamente). El progenitor 6 pertenece a la población SA8 del Cimmyt y los progenitores 12 y 13 se derivaron de la población SA4.^{17,18} La homocigosis de las líneas fue de al menos 96%. En la Tabla 2 se presenta la descripción genealógica de los progenitores incluidos en el estudio.

Para la generación de los 91 cruzamientos dialélicos en campo se utilizó el arreglo de surcos pareados; en cada surco se dispusieron 33 plantas y se hicieron los cruzamientos directos y recíprocos entre cada par de surcos. La semilla obtenida fue utilizada para la evaluación en campo y en invernadero y para la cuantificación de calosa en laboratorio.

En invernadero el experimento fue evaluado en diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones y cada repetición estuvo representada por una cubeta con 40 orificios para los 40 genotipos. El experimento se dividió en tres grupos. Cada grupo

Tabla 2. Pedigrí de los progenitores utilizados en el estudio.

Progenitor	Pedigrí
Resistentes	
1	(Línea 1 x Línea 2)-188-B-B-B-B
2	(Línea 1 x Línea 2)-4-B-B-B-B
3	(Línea 1 x Línea 2)-89-B-B-B-B
4	(Línea 1 x Línea 2)-143-B-B-B-B
5	(Línea 1 x Línea 2)-66-B-B-B-B
6	SA8C3HC114-5-2-5-4-3-2-1-1-B-11-B-B-B
7	SA5-HC1-1-5-1-1-1-7 (Línea 1)
Susceptibles	
8	(Línea 1 x Línea 2)-3-B-B-B-B
9	(Línea 1 x Línea 2)-201-B-B-B-B
10	(Línea 1 x Línea 2)-129-B-B-B-B
11	(Línea 1 x Línea 2)-57-B-B-B-B
12	SA4C4HC40-7-1-2-3-3-1-2-2-B-B-B-B-B
13	SA4C4HC19-3-2-2-2-4-2-2-1-B-8-B-B-B
14	SA4-HC7-1-4-1-2-11-1 (Línea 2)

comprendió 40 genotipos. El primero y el segundo incluyeron 35 cruzamientos y 5 testigos; el tercero incluyó 21 cruzamientos, 14 progenitores y 5 testigos. Los testigos [CLA46 CLA485 (línea 1 x línea 2)-188-BBBB, CML144 y CML159] fueron líneas resistentes o susceptibles a suelos ácidos.

Para comparar los datos entre repeticiones se tomó el porcentaje relativo de calosa de cada genotipo y se asignó el 100% al testigo CML144.

Para el análisis estadístico la partición de las fuentes de variación del dialelo se realizó de acuerdo con Hallauer y Miranda (1988). El procedimiento GLM del paquete SAS 9.¹² y el paquete estadístico GENES de la Universidad de Visosa, Brasil,³ se utilizaron para realizar los análisis estadísticos. En el presente estudio se utilizó el método 2 (que incluye progenitores y cruzamientos) y modelo 1 (fijo) de Griffing (1956). El modelo para el análisis de varianza fue el siguiente:

$$X_{ijk} = \mu + r_k + g_i + g_j + s_{ij} + e_{ijk}$$

donde,

μ = Promedio de la población,

r_k = Efecto de repetición ($r = 1 \dots k$),

g_i, g_j = Efecto de habilidad combinatoria general ($i = j = 1 \dots n$),

s_{ij} = Efecto de habilidad combinatoria específica,

e_{ijk} = Error experimental para la observación X_{ijk} .

Los efectos de habilidad combinatoria general y específica²⁴ se calcularon según Griffing (1956):

$$g_i = (1/n+2)(X_{i.} + x_{ij} - (2X_{..}/n))$$

$$s_{ij} = x_{ij} - (1/n+2)(X_{i.} + x_{.j} + X_{.j}) + [2/(n+1)(n+2)]X_{..}$$

La heterosis (h) se calculó de acuerdo con Hallauer y Miranda (1988) como sigue:

$$h = [(F_1 - MP)/MP] \times 100.$$

Donde,

F₁ = Promedio de la F₁

MP = Valor promedio de los progenitores que originan el cruzamiento.

Descripción del protocolo para cuantificar calosa

Las semillas fueron esterilizadas por un minuto con hipoclorito de sodio al 5% y puestas en papel de germinación con una solución de 1mM CaSO₄. Después de cuatro días las plántulas se transfirieron al invernadero y se mantuvieron en solución nutritiva de [μM]: 400 KNO₃; 200 NH₄NO₃; 10 KH₂PO₄; 100 MgSO₄; 8 H₃BO₃; 0.2 CuSO₄; 0.2 ZnSO₄; 1 MnSO₄; 0.1 (NH₄)₆Mo₇O₂₄; 20 Fe-EDTA; 250 CaSO₄, con pH 4.3 y aireación constante durante 24 a 36 horas. Posteriormente se agregaron 25 μM de AlCl₃ y se mantuvieron por 12 horas. Transcurrido este tiempo, tres ápices radicales de cada genotipo se cortaron y maceraron para la extracción de calosa y la lectura en el espectrofotómetro de fluorescencia (Kauss, 1989). El contenido de calosa se expresó como equivalentes de Pachyman (PE) por centímetro de ápice radical.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se registraron diferencias significativas para todas las fuentes de variación (Tabla 3). El contenido de calosa (μgPE/cm ápice radical) varió de 0.746 (progenitor

1) a 2.035 (progenitor 2), y el progenitor 2 fue el más sensible a Al (Figura 1). El contenido de calosa de la línea 1, la línea 2 y la F fue 1.02; 1.34 y 1.07 (μgPE/cm ápice radical) respectivamente (Figura 2), esto indica dominancia parcial para resistencia a Al debido a la proximidad de la F₁ hacia la línea 1 (resistente). De acuerdo con el contenido de calosa, los progenitores se separaron en dos grupos: aquellos con menos de 1 μg PE/cm de ápice radical (progenitores: 1, 8, 6, 4 y 3) se pueden considerar como resistentes a Al y aquellos con más de 2 μg PE/cm (progenitores: 9, 11 y 2) como sensibles. El testigo (CML144) fue el más sensible a Al (3 μg PE/cm). Se incluye como referencia en la Figura 1 el valor de la DMS (0.05).

Tabla 3. Análisis de varianza para contenido relativo de calosa en ápices de raíz de 14 progenitores y 91 cruzamientos en maíz.

Fuentes de variación	gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Significación
Repetición	2	654.76	327.28	**
Genotipos	104	94203.42	905.80	**
Progenitores (P)	13	1654.31	127.37	**
Cruzamientos (C)	90	73011.77	811.24	**
HCG	13	33677.52	2590.58	**
HCE	77	39333.85	510.83	**
P vs C	1	19537.34	19537.34	**
Error	208	9291.40	44.67	
Total	314	104149.60		

Promedio general (%) = 48.4

CV (%) = 13.8

DMS (0.05) = 6.24

**P(< 0.01)

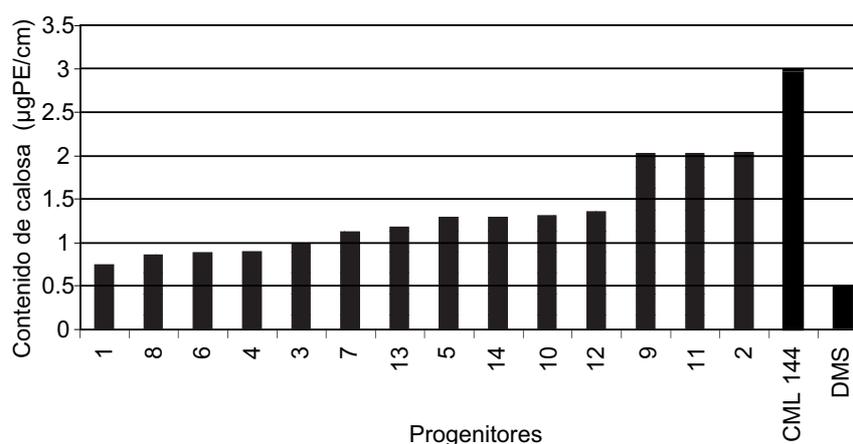
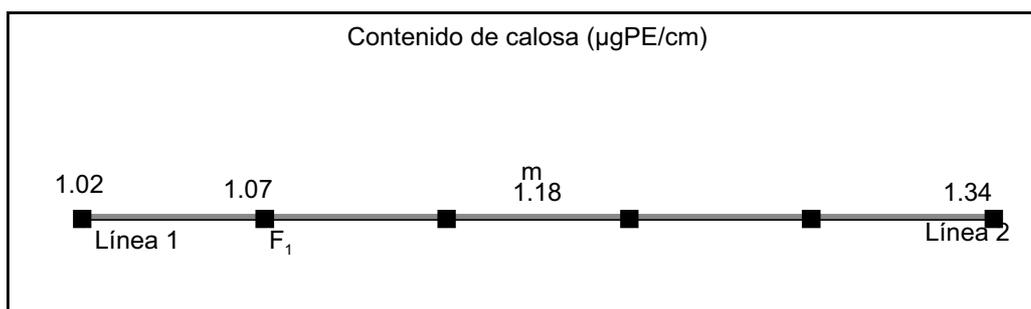


Figura 1. Contenido de calosa en ápices de raíces de maíz de 14 progenitores resistentes y sensibles a suelos ácidos incluyendo el testigo CML144 y el valor de la DMS (0.05).



m=1.18, representa el valor medio de los progenitores (línea 1 y línea 2).
 Sd = 0.03, 0.16 y 0.12 µgPE/cm para la línea1, línea 2 y F₁, respectivamente.

Figura 2. Dominancia parcial para resistencia a aluminio en genotipos de maíz de la F₁ con respecto a la línea 1 (resistente) y línea 2 (sensible)

Los valores de porcentaje relativo de calosa se encuentran en la Tabla 4. Para cruzamientos, los porcentajes variaron de 20% (cruzamiento 4x3) a 88.8% (cruzamiento 10x6). El mayor contenido de calosa correspondió al testigo más sensible a Al (CML144) asignándole un valor de 100%. Los genotipos más resistentes a Al serán aquellos con los menores valores de porcentaje, es decir cercanos a 20%. Según esto los siete cruzamientos más resistentes a Al fueron 4x3 (20%); 13x3(20.1%); 12x7(20.1); 6x4(20.8%); 6x3(20.9%); 7x5(21%) y 7x3(22.7%). Interesante notar que de los siete cruzamientos más resistentes, seis de ellos incluyen al progenitor 3 [(Línea 1xLínea 2)-1-89-B-B-B] y/o progenitor 7 (SA5-HC1-1-5-1-1-1-7). El progenitor 7 es la línea 1. El progenitor 3 incluye la línea 1. Esto indica que la línea 1 tiene la característica

de transmitir a la descendencia la resistencia a Al, medida por su contenido de calosa. Por otro lado, los progenitores 6 y 12 tienen la tendencia de transmitir a su descendencia sensibilidad a Al. Estas líneas intervienen en los cuatro cruzamientos (10x6=88.8%, 11x6=88.7%, 12x9=84% y 12x10=76.5%) con los mayores porcentajes de contenido de calosa.

Tanto los efectos de HCG como los de HCE fueron significativos (Tabla 3) y representaron el 46% y 54%, respectivamente, de la suma de cuadrados de cruzamientos. Esto significa que tanto la selección que utiliza los efectos aditivos y que están relacionados con HCG, como la hibridación que utiliza los efectos aditivos y los no aditivos (dominancia y epistasis) se pueden utilizar como métodos de mejoramiento por resistencia a Al en maíz.

Tabla 4. Valores promedio de porcentaje relativo de calosa en ápices de raíz de maíz de progenitores (diagonal), cruzamientos (parte superior de la diagonal) y heterosis (parte inferior de la diagonal).

P	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	18	40	52	69.3	59.3	58.1	45	48.9	37.5	66	40.5	49.6	61.4	52.1
2	44	37.3	47	40.7	56.6	43.9	47.5	57.2	56.9	54.2	60.2	67.1	58	64.5
3	157	59	22	20	26	20.9	22.7	44.2	51.3	67.6	57.6	29.5	20.1	43.4
4	255	40	-6	20.4	33.4	20.8	28.4	41.5	61.4	52.4	41.4	23	26	50.2
5	165	78	7.5	42	26.4	37.1	21	60.9	44.9	65.8	70.3	27.1	30.2	54.4
6	199	52	-1	1	58	20.5	32.7	69.2	49.3	88.8	88.7	27.3	23.3	35.9
7	113	55	-1	27	-16	48	23.9	53.9	55.1	64.5	42.5	20.1	24.4	58.6
8	154	99	110	103	162	241	145	20.1	56.6	66.9	57.9	72	53.9	56.7
9	35	53	74	112	42	71	81	98	37.1	62.9	64.8	84	54.1	42.6
10	193	70	178	121	148	276	155	186	97	26.7	46.9	76.5	75.2	58.7
11	46	62	95	43	121	207	39	102	75	47	37.2	52.9	50.9	51.8
12	117	108	20	-4	1	14	-21	204	161	184	64	27.3	35.1	63.5
13	184	87	14	14	18	3	1	140	75	192	64	35	24.8	54.7
14	132	102	79	113	106	68	133	144	34	119	63	136	113	26.5

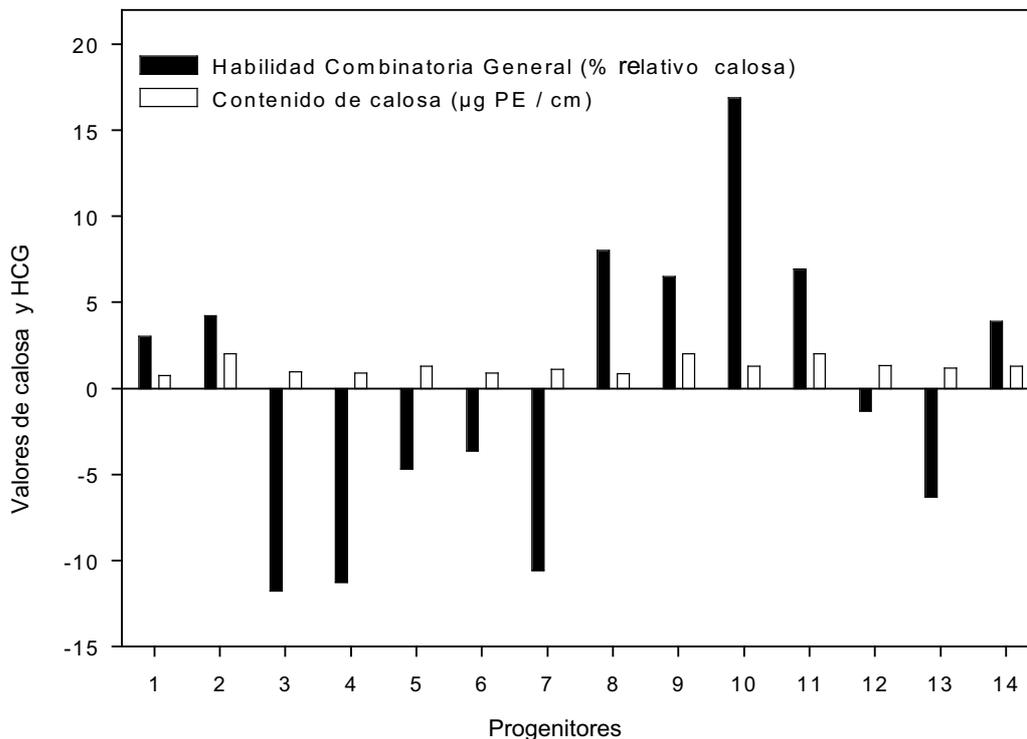
P= progenitores

En la Tabla 5 se presentan tanto los efectos de HCG (diagonal) como los de HCE (en el resto de la tabla). Valores negativos de HCG están asociados con resistencia a AI, puesto que mientras menor sea el contenido de calosa en un genotipo, mayor será la resistencia a AI; en consecuencia, los progenitores 3, 4 y 7 fueron los que más contribuyeron a la resistencia a AI con valores de HCG de -11.74 , -11.24 y -10.54% , respectivamente. El valor de HCG de un progenitor es tanto o más importante que el contenido *per se* de calosa, ya que los cultivares de maíz (híbridos o sintéticos) que sembrará el agricultor provienen de la combinación de dos o más progenitores (Figura 3).

La HCE tiene que ver con el valor de predicción de los progenitores en combinaciones híbridas. Ya que la HCE fue significativa y con valores de suma de cuadrados mayores a los de HCG, el comportamiento de un cruzamiento no se puede predecir con base en el comportamiento de sus progenitores. Por ejemplo, el cruzamiento 6x11 es el más sensible a AI ya que posee el mayor efecto de HCE (35.9%), el contenido de calosa de sus progenitores fue de 20.5% y 37.2%,

respectivamente. Para el cruzamiento 10x11 el efecto de HCE fue de -26.4% , mientras que el contenido de calosa de sus progenitores fue de 26.7% y 37.2%, respectivamente (Tablas 4 y 5). Los dos cruzamientos tienen un progenitor común (progenitor 11) y los otros progenitores tienen valores de calosa no muy diferentes entre ellos; sin embargo, estos dos cruzamientos fueron los más contrastantes del ensayo debido a la combinación específica entre los gametos de cada uno de los progenitores.

La fuente de variación P vs C fue altamente significativa; es decir, el promedio de los progenitores (49.5%) fue mayor al promedio de los cruzamientos (24.6%). Por lo tanto, es también una medida de la heterosis. Los valores de heterosis oscilaron de -21% para el cruzamiento 7x12 a 276% para el cruzamiento 6x10 (Tabla 4). Valores negativos de heterosis significan que el valor de la \bar{F} es menor que el valor del promedio de los progenitores. Falconer (1981) indica que para la expresión de la heterosis es necesario que haya dominancia entre alelos y que exista diferencia de frecuencias génicas entre los progenitores. En el caso



$DMS_{(0.05)} = 0.452 \mu\text{g PE / cm}$ para contenido de calosa

Error estándar = 2.759 para comparar dos valores de HCG

Figura 3. Relación entre contenido de calosa ($\mu\text{gPE/cm}$) y habilidad combinatoria general HCG (%) de progenitores

Tabla 5. Efectos de HCG (diagonal) y HCE (resto de la tabla) de contenido relativo de calosa (%) en ápices de raíces de maíz en progenitores resistentes y susceptibles a suelos ácidos y sus respectivos cruzamientos.

P	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	3.02	-16.68	11.11	28.00	11.50	9.22	3.06	-11.63	-21.47	-3.38	-18.93	-1.63	15.19	-4.36
2		4.21	5.08	-1.78	7.59	-6.11	4.40	-4.55	-3.34	-16.36	-0.45	14.67	10.66	6.88
3			-11.74	-6.47	-7.08	-13.18	-4.46	-1.54	7.04	13.02	12.97	-6.97	-11.28	1.77
4				-11.24	-0.18	-13.79	0.70	-4.84	16.64	-2.76	-3.75	-13.93	-5.95	8.11
5					-4.67	-4.07	-13.25	8.10	-6.37	4.13	18.58	-16.40	-8.27	5.72
6						-3.63	-2.54	15.31	-3.04	26.03	35.90	-17.28	-16.22	-10.24
7							-10.54	6.98	9.63	8.75	-3.36	-17.47	-8.22	15.78
8								8.04	-7.46	-7.57	-6.58	15.79	2.69	-4.71
9									6.49	-9.97	1.94	29.27	4.46	-17.33
10										16.89	-26.42	11.47	15.20	-12.14
11											6.93	-2.21	0.84	-8.52
12												-1.29	-6.72	11.40
13													-6.31	7.63
14														3.89

P= progenitores

del cruzamiento 7x12, el pedigrí del progenitor 12 es SA4C4HC40-7-1-2-3-3-1-2-2-B-B-B-B y del progenitor 7 es SA5-HC1-1-5-1-1-7, lo que indicaría que la diferencia génica entre estos progenitores sería lo suficientemente grande como para que se manifieste la heterosis, ya que las dos líneas provienen de dos poblaciones (SA4 y SA5) heteróticamente diferentes. El hecho de haberse observado una heterosis negativa podría explicarse porque la dominancia no fue expresada. Es posible que la herencia de calosa esté determinada por varios genes, cuyo efecto de dominancia se anule como consecuencia de la diferente dirección en cada uno de los progenitores. Es decir, algunos genes que muestren dominancia en un sentido en el progenitor 7, tengan efecto en sentido contrario en el progenitor 12. En el

caso del cruzamiento 6x10 el pedigrí del progenitor 6 es SA8C3HC114-5-2-5-4-3-2-1-1-B-11-B-B-B y del progenitor 10 es (Línea 1 x Línea 2)-2-129-B-B-B. El valor de heterosis en este cruzamiento fue un resultado esperado, ya que incluye dos líneas que provienen de dos poblaciones de diferente color y textura de grano, donde se espera diferencia en frecuencia génica y también dominancia, de acuerdo con los resultados (expresado por el 54% de la suma de cuadrados para HCE).

Aunque se han realizado considerables avances en el incremento de los rendimientos de maíz cultivado en suelos ácidos,^{15,19} el uso de nuevas herramientas permitirá optimizar los sistemas de mejoramiento y obtener mejores cultivares para los agricultores. La formación de calosa en los ápices radicales surge como

alternativa viable para este propósito. Para cuantificar la relación entre contenido de calosa y rendimiento de grano de maíz en campo se calculó el coeficiente de correlación de Pearson (r) y se obtuvo un valor de $r = -0.38$, no significativo, lo cual indica que a medida que disminuye el contenido de calosa en los ápices radicales se incrementa el rendimiento de grano.

Se hace necesario evaluar otros parámetros relacionados con el sistema radical y la productividad del maíz a fin de establecer alguna mejor relación entre estas características con el propósito de facilitar las ganancias de selección. Igualmente se necesita obtener información en otras poblaciones de maíz para cuantificar la repetibilidad de los resultados. Estos trabajos están en ejecución en el programa de maíz del Cimmyt.

CONCLUSIONES

1. La determinación de calosa en ápices de raíz de maíz fue una herramienta útil para la discriminación de genotipos sensibles y no sensibles a Al, tanto en progenitores (líneas) como en los respectivos cruza mientos. El contenido de calosa en los progenitores varió de 0.746 $\mu\text{g PE/cm}$ (progenitor 2) a 2.035 $\mu\text{g PE/cm}$ de ápice de raíz (progenitor 1). Para los cruzamientos el porcentaje relativo de calosa varió de 20 (cruzamiento 3 x 4) a 88.8 (cruzamiento 6 x 10).
2. El efecto de heterosis, medido por el contraste de Progenitores vs Cruzamientos, fue altamente significativo. Los valores de heterosis variaron de -21.2% (cruzamiento 7 x 12) a 276.3% (cruzamiento 6 x 10).
3. Tanto los valores de HCG como los de HCE fueron altamente significativos, lo que indica que los efectos de aditividad y no aditividad fueron importantes. La SC asociada con HCG y HCE fue del 46% y 54% de las SC de cruzamientos, respectivamente.
4. El coeficiente de correlación ($r = -0.38$) entre contenido de calosa y rendimiento de grano de maíz fue negativo aunque no significativo; lo que indica que la toxicidad por Al estuvo relacionada con los bajos rendimientos de grano de maíz.

AGRADECIMIENTOS

A los profesores de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, que con sus aportes enriquecieron el documento. Al proyecto Hermes de la Universidad Nacional de Colombia por financiar parte de esta investigación. Al Centro Internacional

de Mejoramiento de Maíz y Trigo, Cimmyt, por el planteamiento y ejecución de la investigación con miras a ayudar a resolver la problemática de los suelos ácidos en el mundo. Al doctor Idupulapati Rao, Ph.D del CIAT, por la valiosa ayuda científica y logística para adelantar la investigación. De manera especial agradecemos la ayuda de los doctores Eticha Dejene y Walter Horst, de la Universidad de Hannover, de Alemania, y a la doctora Sol Mediana, de INIA-Venezuela.

BIBLIOGRAFÍA

1. Borrero J. S.; Pandey, H.; Ceballos, R.; Magnavaca, A.F.C. Bahia Filho. 1995. Genetic variances for tolerance to soil acidity in a tropical maize population. *Maydica* 40: 283-288.
2. Collet, L.; De León, C.; Kollmeier, M.; Schmohl, N.; Horst, W. 2002. Assessment of aluminum sensitive of maize cultivars using roots of intact plants and excised root tips. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 165: 357-365.
3. Cruz, C.D. 2001. Programa Genes. Versao Windows. Aplicativo Computacional em Genetica e Estadistica. Universidade Federal de Vicosa. Brasil.
4. Duque-Vargas, J.; Pandey, S.; Granados G.; Ceballos.; Knapp E. 1994. Inheritance of tolerance to soil acidity in tropical maize. *Crop Sci.* 34:50-54.
5. Eticha, E.; Welcker, C.; Narro, L.; Stab, A., W, Horst. 2005, Aluminium-induced callose formation in root apices: inheritance and selection trait for adaptation of tropical maize to acid soils, *Field Crop Res.* 93: 252-263.
6. Falconer, D.S. 1981. Introduction to Quantitative Genetics. Logman Scientific & Technical. New York.
7. García, J.; Silva, W.; Massel, M. 1979. An efficient method for screening maize inbreds for Aluminum tolerance. *Maydica* 23:75-82.
8. Griffing, B. 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Aust. J. Biol. Sci.* 9: 463-493.
9. Hallauer, A.R.; Miranda, J.B. 1988. Quantitative genetics in maize breeding. Iowa State University. 468p
10. Horst, W.J.; Puschel, A.K.; Schmohl, N. 1997. Induction of callose formation is a sensitive marker for genotypic aluminium sensitivity in maize. *Plant Soil* 192:23-30.
11. Kauss, H., 1989. Fluorometric measurement of callose and other 1,3 β -glucans, In: Linskens, H.F., Jackson, J.F. (eds.) *Modern Methods of Plant Analysis*. Germany. Vol 10 pp, 127-137.
12. Kauss, H. 1996. Callose synthesis. In M. Smallwood, J.P. Knox, D.J. Bowles (eds.) *Membranes: Specialized Functions in Plants* Bios Scientific Publishers, Guildford, UK, pp. 77-92.
13. Magnavaca, R.; Gardner, C.O.; Clark, R.B. 1986. Evaluation of inbred maize lines for aluminum tolerance in nutrient solution. p. 89-199. In: Gabelman W.H.; Loughman, B.C. (eds.) *Genetic aspects of plant mineral nutrition* Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publ. The Hague, The Netherlands.
14. Miranda, L.; Furlany, P.; Sawasaki, E. 1984. Genetics of environmental resistance and supergenes: Latent aluminium tolerance. *Maize Genetic Coop. Newslet.* 58: 46-48.
15. Narro, L.A.; Pandey, S.; De León, C.; Salazar, F.; Arias, M.P. 2001. Implications of Soil-Acidity Tolerant Maize Cultivars to Increase Production in Developing Countries.

- In AE, N. Arihara, J.; Srinivasan, K.A. (eds.) *Plant Nutrient Acquisition : New Perspectives* . Tokyo. pp 447-463. NIAES. Springer.
16. Pandey, S.; Ceballos, H.; Granados, G. 1994. Development of soil acidity tolerant cultivars for the tropics. Proc. 15th World Congress of Soil Science. Acapulco, Mexico, p.579-592.
 17. Pandey, S.; Ceballos, H.; Granados, G. 1995a. Registration of Four Tropical Maize Populations with Acid Soil Tolerance: SA-4, SA-5, SA-6, and SA-7. *Crop Sci* 35: 1230-1231.
 18. Pandey, S.; Ceballos, H.; Granados, G. 1995b. Registration of Acid Soil Tolerant Maize Populations SA-3 and SA-8. *Crop Sci* 35: 1236.
 19. Pandey, S.; Narro, L.A.; Friesen, D.K.; Waddington, S.R. 2007. Breeding Maize for Tolerance to Soil Acidity. In: Janick, J. (ed.) *Plant Breeding Reviews*. Hoboken, N.J.: Wiley.
 20. Prioli, A. 1987. Análise genética da tolerância a toxidez do alumínio em milho (*Zea mays* L.) Ph.D. Thesis, Univ. Campinas. SP, Brazil. 182 p.
 21. Rhue, R.; Grogan, C.O.; Stockmayer, E.; Everett, H. 1978. Genetic control of aluminum tolerance in corn. *Crop Sci.* 18: 1063-1067.
 22. SAS. 2001. SAS/Stat User's Guide, Version 8.1. Cary, NC: SAS Institute.
 23. Sawasaki, E.; Furlani, P. 1987. Genética da tolerância ao alumínio em milho cateto. *Bragantia* 46:269-278.
 24. Sprague, G.F.; Tatum, L.A. 1942. General versus specific combining ability in single crosses of corn. *J. Am. Soc. Agron.* 34:923-932.
 25. Stockmeyer, E.; Everett, N. 1979. Studies on the mechanisms of Al response in maize. *Maize Genet Coop. Newsl.* 53: 47-48.