



Seamaíz

XI Congreso Nacional de Maíz

GENÉTICA Y MEJORAMIENTO
GENÉTICO VEGETAL

VARIABILIDAD DE CARACTERES AGRONÓMICOS EN LÍNEAS DOBLE-HAPLOIDES DE POBLACIONES-FUENTE DE MAÍZ TROPICAL

Trindade, R. S.⁽¹⁾; Azevedo, T. C.⁽²⁾; Guimarães, S. A. ⁽³⁾; Souza, I. R. P. ⁽¹⁾; Guimarães, L. J. M.⁽¹⁾; Guimarães, P. E. O.⁽¹⁾ y Silva, K. J.⁽⁴⁾

¹. Investigador, Embrapa Milho e Sorgo, Carretera MG 424, Km 45, Sete Lagoas, Minas Gerais – Brasil. E-mail: roberto.trindade@embrapa.br.

². Becaria de graduación in Biotecnología, Facultad Ciencias da Vida, Av Prefeito Alberto Moura, 12632 - Indústrias, Sete Lagoas – Minas Gerais - Brasil. E-mail: tacilacristina1@hotmail.com.

³. Becario de graduación in Agronomía, Universidad Federal de São João del Rey – Campus Sete Lagoas - Carretera MG-424, Km 47, s/n - Indústrias, Sete Lagoas, Minas Gerais – Brasil. Email: silvimar030814@gmail.com

⁴. Becaria de doctorado in Genética e Mejoramiento de Plantas, Universidad Federal de Viçosa - Avenida Peter Henry Rolfs, s/n - Campus Universitário, Viçosa – MG. Email: Karla.js@hotmail.com

VARIABILITY OF AGRONOMIC CHARACTERES IN MAIZE DOUBLED HAPLOID LINES FOR TROPICAL BASED DONORS

ABSTRACT

The visual evaluation is the methodology most used in breeding programs for selection of double-haploids (DHs) in the field and discard of false-positives. Therefore, it is extremely important to construct character banks that allow the precise identification of double-haploids. The objective of this study was to evaluate the variability of 12 agronomic traits of interest for differentiation between maize double haploids and false-positive strains. 1440 lines, selected as double-haploids (DHs) from 12 donors were evaluated for 12 agronomic characteristics of interest, and separated between putative doubled haploids and false positives, which resulted in 432 DH lines. The results indicated that the parameters related to seed production were the most enabled the differentiation between double-haploids and false-positives. The use of agronomic character bank was efficient in the selection of putative double-haploids.

Palabras Clave

Zea mays L., Desecho de falsos-positivos, Producción de líneas homocigotas.

Keywords

Zea mays L.; Discard of false positives; Production of homozygous lines.

INTRODUCCIÓN

Hasta el momento no se han difundido híbridos de maíz destinados específicamente para la industria de biocombustibles (Lewis *et al.*, 2009). La aptitud industrial de los granos está determinada por sus propiedades físico-químicas. El rendimiento de etanol está estrechamente ligado a la cantidad y disponibilidad enzimática de polisacáridos fermentables.

Para avanzar en la generación de mejores híbridos para producir etanol resulta necesario conocer los efectos de las características

de calidad del grano sobre el rendimiento del mismo. A partir de los efectos de aptitud combinatoria de líneas parentales puede explicarse el comportamiento de sus híbridos. Los diseños dialélicos de Griffing (1956) permiten estimar tales efectos.

El objetivo de este trabajo fue ampliar el grado de conocimiento de los efectos de las propiedades físico-químicas del grano sobre el rendimiento de etanol, su magnitud y los tipos de acción génica involucrados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se condujeron experimentos de bloques completos aleatorizados con dos repeticiones, en cinco ambientes del norte de la provincia de Buenos Aires. En la campaña 2015-16 se implantaron experimentos en Colón (campo experimental de *DOW Agrosciences CLL*), Junín (campo experimental de la UNNOBA) y Pergamino (EEA INTA Pergamino). En la campaña 2016-17 los experimentos se realizaron en Junín y Pergamino.

El material genético consistió en cinco líneas endocriadas de maíz desarrolladas por INTA Pergamino LP2542 (L_1); LP661 (L_2); LP29 (L_3); LP923 (L_4) y LP214 (L_5) de diferentes características de grano, pertenecientes a distintos grupos de heterosis y sus diez cruza-mientos simples posibles en un solo sentido. Se obtuvieron muestras de granos en cada unidad experimental mediante polinizaciones controladas para evitar efectos de xenia. Se midieron las siguientes variables: I) Contenido de almidón (Al, en porcentaje, mediante polarimetría); II) Contenido de amilosa (Am, en porcentaje, por espectrofotometría) excepto para la localidad de Colón; III) Relación entre amilosa y almidón (Am/Al , como $(Am/Al)*100$); IV) Contenido de proteína (P, en porcentaje, mediante NIRs); V) Rendimiento de etanol (RE, en L de etanol. Mg^{-1} de grano, por NIRs); VI) Rendimiento de grano (RG, en $Mg.Ha^{-1}$); VII) Producción de etanol (PE, en $L.Ha^{-1}$, a partir de RE x RG) y VIII) Relación de molienda (RM, $g.g^{-1}$).

Se empleó un diseño Dialélico de Griffing, método IV, modelo I para determinar los efectos fijos de aptitud combinatoria general (ACG) y específica (ACE) a través de localidades, mediante el software AGD-R (2015) Versión 2.0. Se estimó el índice de Baker (Baker, 1978). Se calcularon las correlaciones de Pearson simples y parciales con Infostat (Di Rienzo, *et al.*, 2017). Los niveles de heterosis (H, en porcentaje) se obtuvieron a partir del comportamiento promedio de los híbridos y el promedio de sus líneas parentales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó una marcada asociación positiva del AI ($r=0,65$; $p<0,05$) y en menor medida del Am ($r=0,21$; $p<0,001$) con el RE. Por el contrario P, Am/AI y RM mostraron asociaciones negativas con el RE ($r=-0,71$, $p<0,001$; $r=-0,34$; $p<0,05$; $r=-0,49$, $p<0,001$; respectivamente). La RM mostró una correlación negativa con AI ($r=-0,61$, $p<0,001$) y positiva con Am/AI ($r=0,48$, $p<0,001$). Los granos más duros tienden a poseer menor contenido de almidón y mayor contenido de amilosa en el mismo. El efecto de estas dos últimas variables sobre el RE son consistentes con la asociación negativa de la RM con RE encontrada en este trabajo e informada en la literatura (Eyhérbide 2014; Gerde *et al.*, 2017; Alegre *et al.*, 2018) Esto se corroboró al analizar las correlaciones parciales entre el RE y una serie de variables (RM, P, AI, Am y Am/AI). La

variable más influyente en la PE fue el RG, ($r=1$, $P<0.001$) y no el RE ($r=0,33$, $P<0.001$), Tabla 1, Diagonal superior.

Se detectaron diferencias significativas entre genotipos para todas las variables e interacción genotipo por ambiente para RG y PE (Tabla 2). Los efectos de ACG se muestran en la Tabla 3. Las líneas L₁ y L₃ presentaron los mayores valores positivos de ACG para AI, RE contribuyendo a la media de los híbridos para esos caracteres, y valores negativos para el P, RM, y Am/AI. Las líneas L₄ y L₅ mostraron efectos de ACG opuestos a las líneas L₁ y L₃. Las correlaciones de los efectos de ACG (Tabla 1, Diagonal inferior) fueron congruentes con las correlaciones fenotípicas.

| Variables Fenotípicas | Contenido de Almidón | Contenido de Proteína | Relación de Molienda | Rendimiento de Etanol | Rendimiento de Grano | Producción de Etanol | Contenido de Amilosa | Relación Am/AI |
|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------|
| Contenido de Almidón | - | -0,78** | -0,61** | 0,65** | 0,21* | 0,24** | 0,46** | -0,38** |
| Contenido de Proteína | -0,78** | - | 0,75** | -0,71** | -0,21* | -0,25** | -0,20* | 0,46** |
| Relación de Molienda | -0,61** | 0,75** | - | -0,49** | -0,13 | -0,17** | -0,05** | 0,48** |
| Rendimiento de Etanol | 0,65** | -0,71** | -0,49** | - | 0,27** | 0,33** | -0,01** | -0,34** |
| Rendimiento de Grano | 0,21* | -0,21* | -0,13 | 0,27** | - | 1,00** | -0,03** | -0,15** |
| Producción de Etanol | 0,24** | -0,25** | -0,17** | 0,33** | 1,00** | - | ** | -0,17** |
| Contenido de Amilosa | 0,46** | -0,20* | -0,05** | -0,01** | ** | ** | - | 0,23 |
| Relación Am/AI | -0,38** | 0,46** | 0,48** | -0,34** | -0,15** | -0,17** | 0,23 | - |

No significativo (ns), Significativo al 5% (*), Significativo al 1% (**)

Tabla 1. Matriz de correlación. Diagonal superior: correlación fenotípica entre las variables originales. Diagonal inferior: correlación entre los efectos de ACG obtenidos para cada variable.

| Variables | Contenido de Almidón | Contenido de Proteína | Relación de Molienda | Rendimiento de Etanol | Rendimiento de Grano | Producción de Etanol | Contenido de Amilosa | Relación Am/AI |
|-----------|----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------|
| Amb | 4 | 2553** | 9,59** | 6,75** | 429,40** | 69,46** | 6209942,96** | 3 |
| Rep(Amb) | 5 | 115** | 0,02** | 1,55** | 316,00** | 2,78** | 42181918** | 2 |
| Gen | 9 | 29,77** | 7,59** | 5,66** | 470,80** | 5,43** | 13647165** | 9 |
| ACG | 4 | 64,76** | 5,89** | 9,47** | 1035,19** | 5,02** | 1037211** | 4 |
| ACE | 5 | 178** | 0,16** | 0,21** | 28,37** | 7,55** | 12667240** | 5 |
| AmB:Gen | 35 | 143** | 0,59** | 0,59** | 72,69** | 2,71** | 897961,62** | 27 |
| Amo:ACG | 16 | 136** | 0,55** | 0,43** | 810,4** | 2,26** | 518963,05** | 12 |
| Amo:ACE | 20 | 144** | 0,45** | 0,55** | 66,00** | 3,07** | 665986,67** | 15 |
| Repb:Am | 45 | 161** | 0,31** | 0,40** | 66,40** | 1,15** | 260077,54** | 36 |
| B | 9,99 | 190 | 0,99 | 0,99 | 0,57 | 0,56 | 0,99 | 0,98 |

No significativo (ns), Significativo al 5% (*), Significativo al 1% (**). GL: Grados de libertad; CM: Cuadrados medios; PV: Fuente de variación; Amb: Ambiente; Rep: Repetición; Gen: Genotipo; ACG: Aptitud combinatoria general; ACE: Aptitud combinatoria específica; AI: Almidón; Am: Amilosa; B: Índice de Baker como $[2^2CM_{amb} + 2^2CM_{gen} + 2^2CM_{acg}]$

Tabla 2. Análisis de varianza a través de localidades, siguiendo un Diseño Dialélico de Griffing, método IV de efectos fijos y estimación del índice de Baker (1978)

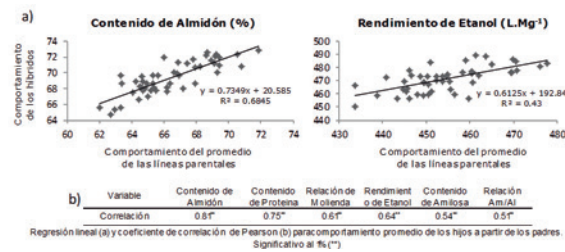


Gráfico 1. Asociación del comportamiento promedio de las líneas parentales con el comportamiento de los híbridos.

| Líneas asociadas | Contenido de Almidón | Contenido de Proteína | Relación de Molienda | Rendimiento de Etanol | Rendimiento de Grano | Producción de Etanol | Contenido de Amilosa | Relación Am/AI |
|------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------|
| Línea ID | X | ACG | X | ACG | X | ACG | X | ACG |
| LP2542 | L ₁ | 87,9 | 109** | 0,0 | -102** | 3,3 | -0,82** | 4611 |
| LP561 | L ₂ | 84,1 | -107** | 0,0 | 0,80** | 6,3 | 0,84** | 4444 |
| LP29 | L ₃ | 77,4 | 196** | 0,0 | -0,48** | 4,1 | -0,51** | 4650 |
| LP923 | L ₄ | 65,2 | -0,57** | 0,8 | 0,57** | 5,6 | 0,54** | 4553 |
| LP2W | L ₅ | 82,5 | -143** | 0,0 | 0,14** | 5,0 | 0,9** | 4404 |
| X Líneas | 66,14 | 119 | 0,19 | 4,9 | 453,2 | 5,1 | 0,55 | 28,0 |

No significativo (ns), Significativo al 5% (*), Significativo al 1% (**). X: media; ACG: aptitud combinatoria general; ID: identificación

Tabla 3. Efectos de aptitud combinatoria general para las líneas en estudio, y sus valores promedios.

El análisis de regresión y correlación del comportamiento de los híbridos respecto del promedio de sus parentales (Gráfico 1), mostraron una asociación significativa para las características de calidad, y se identificó una preponderancia de efectos aditivos involucrados en el control genético de los mismos.

Desde el punto de vista de la PE (y del RG), resulta importante considerar los efectos de ACE (Tabla 4) que fueron relevantes en

las cruzas $H_{4 \times 1}$ y $H_{5 \times 2}$ para el RG y la PE, concordando con altos niveles de heterosis (%). Resulta interesante la craza $H_{4 \times 1}$, esta combinación está dada por LP923 (L_4) que aporta efectos aditivos para la PE y por LP2542 (L_1) que aporta efectos aditivos positivos para AI. De los híbridos evaluados, los mejores híbridos para alto RG y PE fueron $H_{4 \times 1}$; $H_{5 \times 1}$; $H_{5 \times 3}$ y para el RE fueron $H_{4 \times 1}$ ($482,76 \text{ L.Tn}^{-1}$); $H_{4 \times 3}$ ($477,32 \text{ L.Tn}^{-1}$) y $H_{4 \times 2}$ ($475,77 \text{ L.Tn}^{-1}$).

| Variables | Cruzas | H _{2x1} | H _{3x1} | H _{4x1} | H _{5x1} | H _{2x2} | H _{3x2} | H _{4x2} | H _{5x2} | H _{2x3} | H _{3x3} | H _{4x3} | H _{5x3} |
|------------------------------|--------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Rendimiento de grano (Mg/ha) | ACE | 0,06 ** | 0,04 ** | 0,69 * | -0,78 * | -0,11 ** | -1,08 ** | 1,12 ** | 0,40 ** | -0,33 ** | -0,01 ** | | |
| | H | 83,21 | 65,88 | 98,06 | 210,84 | 99,20 | 67,34 | 68,95 | 200,3 | 225,84 | 69,91 | | |
| | X | 9,47 | 8,38 | 11,55 | 10,8 | 9,32 | 9,56 | 9,62 | 9,76 | 10,16 | 9,66 | | |
| Producción de Etanol (L/ha) | ACE | 33,45 ** | 26,9 ** | 321,9 * | -380,62 ** | -68,45 ** | -627,90 ** | 554,91 * | 207,54 ** | -73,28 ** | -0,81 ** | | |
| | H | 16134 | 16961 | 20876 | 22333 | 20998 | 16351 | 16569 | 216231 | 24623 | 16641 | | |
| | X | 4469,35 | 4940,69 | 5513,68 | 4845,89 | 4388,99 | 4398,35 | 44514,9 | 4699,7 | 4785,35 | 4473,54 | | |

Tabla 4. Efectos de aptitud combinatoria específica para los híbridos en estudio, sus niveles de heterosis y valores promedios respectivamente para el rendimiento de grano y producción de etanol.

CONCLUSIÓN

Los granos con mayor contenido de almidón favorecerían a un mayor RE, estos están correlacionados negativamente con el contenido de proteína y la relación de molienda. Existen relaciones en la estructura química del grano, evidenciando que la asociación almidón-proteína y amilosa-proteína jugarían un rol importante en la cantidad de polisacáridos fermentables disponible.

Los resultados indican que para el desarrollo de híbridos con mayor RE, resultaría suficiente tener en cuenta para la elección de las líneas progenitoras a sus efectos de ACG para RE, o en todo caso con mayores efectos ACG para AI y menores para P y Am/AI. Esto se refleja en el índice de Baker obtenido y en el comportamiento de las cruzas respecto del promedio de sus líneas parentales, donde la selección a favor del AI y en contra del P puede ser posible por su alto nivel de efectos aditivos involucrados en su control genético. Las mejores líneas para desarrollar híbridos con alto RE son L_1 (LP2542) y L_3 (LP29), en cambio para desarrollar híbridos con alta PE son las líneas L_1 (LP2542) y L_4 (LP923). La craza más interesante fue $H_{4 \times 1}$ (LP923xLP2542), por conciliar los objetivos industriales (granos con altos RE) con los productivos (mayor RG), maximizando la PE.

Fuente de financiamiento: El presente proyecto es en conjunto con la Asociación Civil Cluster de la Semilla y cuenta con el subsidio PDT5 494 CIN-CONICETC.

Referencias

Alegre M., (2018) *Evaluación de calidad en cereales para la producción de bioetanol*. Actas MAIZAR, Buenos Aires 22 de Mayo de 2018.

Baker, R. J. (1978). *Issues in diallel analysis*. Crop science, 18(4), 533-536.

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. *InfoS-*

tat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL
<http://www.infostat.com.ar>

Eyhérbide G. H., (2014). *Genética y mejoramiento aplicados al desarrollo de maíz para bio-
etanol*. Actas X Congreso Nacional de Maíz. AIANBA. Rosario, 3 al 5 de septiembre de 2014

Francisco R.; Alvarado G.; Pacheco A.; Crossa J.; Burgueño j., (2015). *AGD-R (Analysis
of Genetic Designs with R for Windows)*. Version 2.0", <http://hdl.handle.net/11529/10202>
International Maize and Wheat Improvement Center

Gerde, J. A., Spinozzi, J. I., and Borrás, L., (2017). *Maize Kernel Hardness, Endosperm
Zein Profiles, and Ethanol Production*. BioEnergy Research, 10(3), 760-771.