



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

La producción de doble-haploides (DHs) en maíz por el protocolo in vivo tiene cuatro etapas (Prigge & Melchinger, 2012): i) inducción de haploides por cruces de poblaciones-fuente con inductores de haploidia, según las metas del mejorador; ii) Selección de haploides por marcadores fenotípicos, siendo el más utilizado el marcador R1-navajo (R1-nj); iii) duplicación cromosómica, por uso de inhibidores de mitosis para la restauración de la fertilidad y obtención de líneas DH, y; iv) Autofecundación de los doble-haploides obtenidos para multiplicación de las semillas de las líneas homocigotas. En Brasil, los programas de mejoramiento de maíz han adoptado esta técnica para producción de líneas de maíz, buscando reducir el tiempo para lanzamiento de nuevos cultivares.

La selección de haploides en maíz está basada en el gen R1-nj, así que se consideran haploides semillas con ausencia de pigmentación púrpura en su embrión y presencia de pigmentación púrpura en el endospermo, lo que indica que hubo formación de un embrión sin intercambio de información genética entre los padres involucrados en las cruces. Aunque esta metodología es de fácil aplicación, la pigmentación de la semilla por anto-

cianina puede variar en extensión e intensidad debido al genotipo en uso. Además de la presencia del gen en su forma dominante, la expresión de los genes A1, A2, Bz1, Bz2, C1 y C2, ligados a la síntesis de antocianina, contribuyen a intensificar la pigmentación de semillas con coloración púrpura (Geiger, 2009). Por otro lado, la expresión de los genes C1-l, C2-l_{df} e in-1D, involucrados en la ruta metabólica de la antocianina, inhibe la biosíntesis de ese compuesto en el endospermo y en el embrión de las semillas (Geiger, 2009), y puede acarrear equívocos en la selección de semillas haploides basadas en el marcador R1-nj, siendo necesaria la identificación y eliminación de los posibles contaminantes.

La evaluación visual es la metodología más utilizada en programas de mejoramiento para selección de DHs y descarte de posibles falsos positivos en el campo. Así que es de suma importancia el levantamiento y la construcción de bancos de caracteres que permitan la identificación precisa de dobles haploides. El objetivo en este trabajo fue evaluar la variabilidad de caracteres agronómicos que permitan diferenciación entre líneas dobles haploides y falso positivos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo fue realizado en la Embrapa Maíz y Sorgo, ubicada en la ciudad de Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil, entre julio de 2017 y enero de 2018. Para la obtención de los dobles haploides, 12 poblaciones fuente, siendo una del grupo heterótico Flint (DH1700383) y las poblaciones fuente restantes del grupo heterótico dentado (Tabla 1), fueron cruzadas con el híbrido inductor de haploidia TAIL P1 X TAIL P2. En la cosecha, se realizó la selección de semillas haploides para cada población fuente inducida con base en el marcador R1-nj, seleccionándose como haploides semillas con embrión blanco y endospermo con pigmentación púrpura.

Para obtención de líneas doble haploides, semillas seleccionadas como haploides fueron cultivadas en bandejas plásticas con 120 celdas con vermiculita. Así que, para cada población, se generaron 120 plántulas, resultando en 1440 genotipos para evaluación. Después de 15 días de siembra, las plántulas germinadas fueron retiradas del sustrato y tuvieron sus raíces lavadas en agua para remoción del sustrato.

En la duplicación cromosómica, después del lavado, las plántulas fueron insertadas en beakers de 1L identificadas, añadiendo en cada beche una solución de colchicina

a 0,06%, hasta cubrir completamente las raíces. A continuación, las plántulas fueron mantenidas por seis horas en solución bajo temperatura ambiente y baja luminosidad. En el transcurso de este período, las plantas pasaron por lavado de raíces en agua corriente por una hora, seguido del trasplante en bandejas de 120 celdas con sustrato comercial, y llevadas a invernadero.

A los 10 días del tratamiento con colchicina, las plantas fueron trasplantadas a macetas de 20 litros, con suelo abonado y mantenidas en invernadero por todo su ciclo. Pasado el trasplante, las líneas fueron manejadas de acuerdo con lo recomendado para el maíz.

Las evaluaciones empezaron a partir de la antesis para 12 características agronómicas, a saber: floración masculina (FM) y femenina (FF), en días; Intervalo entre floración femenina y masculina (IFIM); longitud del vástago principal de la panoja (LP), en centíme-

tros; Número de ramificaciones de la panoja (NRP); Altura de planta (AP) y de inserción de la 1ª mazorca (AM), en centímetros; longitud de la mazorca (LM), en centímetros, diámetro de la mazorca (DM), en centímetros; número de semillas en la mazorca (NS); número de hileras de granos (NH) y peso de semillas (PS), en gramos.

Para el análisis estadístico, los 1440 genotipos fueron separados en dobles haploides y falsos positivos de acuerdo con la evaluación visual y los parámetros evaluados, contrastando los datos obtenidos de los genotipos dobles haploides y falsos positivos, obtenidos de cada población fuente, utilizando la prueba no paramétrica de Wilcoxon. Después de estas evaluaciones 432 genotipos se identificaron como doble haploides putativos (alrededor del 30% de DH en cada población-fuente). Todos los análisis estadísticos se efectuaron en el software SAS (2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó una variación entre los genotipos provenientes de las diferentes poblaciones-fuente para las características agronómicas evaluadas (tabla 1), denotando la existencia de variabilidad genotípica entre las fuentes utilizadas para la obtención de DHs. Una de las aplicaciones de la tecnología de doble haploides en el mejoramiento del maíz es la ampliación de la variabilidad genotípica en el germoplasma élite, por medio de la derivación de líneas homocigotas de poblaciones superiores.

El inicio del florecimiento varió de 56 a 64 días para FM y 56 a 69 días para FF (tabla 1), indicando un ciclo precoz. No hubo diferencias significativas entre líneas DH y los falsos positivos evaluados cuanto al FM, con excepción de las líneas DH1700401, DH1700389, DH1700390 y DH1700394.

Con excepción de los genotipos DH1700390 y DH1700391, el IFIM varió entre 0 y 12 días para los doble haploides putativos (tabla 1), indicando que la emisión de los es-

tilo-estigmas ocurrió antes de la liberación de polen. Uno de los objetivos de la duplicación cromosómica es la restauración de la fertilidad de espigas en las líneas DH. Pero, este proceso no ocurre de forma homogénea en toda la planta, pudiendo ocurrir duplicación deficiente de cromosomas en parte de las células (Prigge e Melchinger, 2012). Este hecho explica la reducción de la emisión de polen, y la apertura tardía de anteras en líneas DHs. Para IFIM, hubo diferencias significativas entre DHs y falsos positivos para la población fuente DH1700384.

El LP y el NRP variaron entre 14 y 34 cm y 1 a 8 ramificaciones por espiga, respectivamente (tabla 1), indicando la formación de espigas compactas y poco ramificadas. El AP y el AM variaron entre 82 e 113 cm y 15 a 44 cm, respectivamente, con un porte característico de líneas homocigotas.

No hubo diferencia significativa de LM para las líneas evaluadas, con excepción de los genotipos DH1700389 y DH170001 (tabla

1). El LM varió entre 3,9 y 10 cm para DHs, aproximándose a una longitud de mazorcas típica de líneas endogámicas.

Los parámetros que proporcionaron mayor diferenciación entre DH y falsos positivos para el grupo de genotipos evaluado son los involucrados con producción de semillas, como DM, NS, NH y PS. Las diferencias significativas en estos parámetros se observaron para las líneas DH1700389, DH1700390, DH1700400, DH1700401, DH1700405, DH1700406 y DH1700407 (tabla 1). En general, las líneas DHs presentaron los menores

valores de estos parámetros, con el DM variando entre 2,8 y 7,2 cm, NS variando entre 2 y 32 semillas, NF variando entre 2 y 7 filas y PS variando entre 0,5 y 5,1g.

La baja producción de semillas es una característica conocida en doble haploides (Geiger, 2009), y es resultado de la baja producción de polen observada en estos genotipos. Así que, para el grupo de genotipos estudiados, los parámetros ligados a la producción de semillas serían los más recomendados para la distinción entre DHs y falsos positivos, evitando así la eliminación equivocada de DHs putativos..

CONCLUSIÓN

Las características de mayor distinción entre DHs y falsos positivos fueron el DM, NS, NH y PS, indicando que los parámetros relacionados con la producción de semillas se pueden aplicar para la comparación de dobles haploides y falsos positivos, evitando el descarte equivocado de DHs putativos.

Apoyo financiero: FAPEMIG – Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais y CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Referencias

GEIGER, H. H. (2009). *Doubled haploids*. In: BENNETZEN, J. L.; HAKE, S. (Ed.). *Maize handbook: genetics and genomics*. New York: Springer Verlag. V. 2, p. 641-659.

PRIGGE, V.; MELCHINGER, A. E. (2012). *Production of haploids and doubled haploids in maize*. *Plant cell culture protocols, 3rd edition*. Humana Press - Springer Verlag, Totowa, New Jersey.

Genética y Mejoramiento Genético Vegetal

Trindade, R. S.; Azevedo, T. C.; Guimarães, S. A.; Souza, I. R. P.;
Guimarães, L. J. M.; Guimarães, P. E. O. y Silva, K. J.

Poblaciones fuente	FM (DÍAS)			FF (DÍAS)			LP(cm)			NRP		
	DHs	FP	Z	DHs	FP	Z	DHs	FP	Z	DHs	FP	Z
DH1700383	61	63	0,0	69	66	0,0	21,5	35,0	0,6	5	5	0,0
DH1700389	56	57	0,0	57	61	1.68*	32,0	29,1	1,2	8	6	0,8
DH1700390	57	56	0,7	56	61	-1.44*	31,3	35,7	0,0	4	4	0,0
DH1700391	62	58	0,8	57	58	-0.22	14,0	30,6	-1,3	1	7	-1,3
DH1700394	58	58	-0,7	61	69	1.87*	22,0	34,2	-1,3	4	4	-0,2
DH1700397	58	57	0,3	65	64	0,0	29,0	27,0	0,0	5	3	0,6
DH1700398	64	63	0,0	68	69	0,0	34,0	30,0	-0,6	5	5	-0,6
DH1700400	62	62	-0,3	63	64	-0,3	30,3	30,0	0,1	6	5	0,7
DH1700401	63	56	-1,78*	66	66	0,2	29,5	28,2	-0,2	8	3	-1,74*
DH1700405	62	60	-0,7	65	64	0,0	22,7	32,4	1,46*	4	4	0,3
DH1700406	58	63	0,0	58	59	-0,5	32,3	39,8	-0,4	1	1	0,2
DH1700407	56	56	-0,3	65	58	1,90*	30,5	31,0	-0,5	5	6	-0,3
Poblaciones fuente	AP(cm)			AM(cm)			IFIM(DÍAS)			LM(cm)		
	DHs	FP	Z	DHs	FP	Z	DHs	FP	Z	DHs	FP	Z
DH1700383	96,5	98,0	0,0	38,0	43,0	0,0	8	3	-0,7	8,0	12,0	0,6
DH1700389	88,5	88,1	0,0	33,0	37,2	0,0	5	-2	0,6	6,2	10,9	-1,57*
DH1700390	136,3	125,0	0,8	47,0	36,0	1,3	-1	1	-0,2	7,0	7,0	0,0
DH1700391	77,0	117,7	-1,3	16,0	35,7	-1,3	-5	0	0,8	10,0	9,4	0,51
DH1700394	92,5	93,5	-0,3	32,0	17,8	1,66*	12	3	1,86*	6,8	7,9	-0,5
DH1700397	90,5	92,3	0,0	33,5	48,0	-0,3	8	7	0,0	5,0	6,5	0,0
DH1700398	108,0	115,0	0,0	36,0	33,0	0,0	4	6	0,6	6,8	5,5	0,0
DH1700400	113,3	105,5	0,3	36,0	37,7	-0,1	1	2	-1,2	4,5	5,8	-1,2
DH1700401	82,2	97,4	-0,7	30,8	38,0	1,1	3	3	-1,4	3,9	6,1	-1,57*
DH1700405	110,3	110,2	-0,1	44,6	28,2	1,5	2	3	-0,1	9,5	9,6	0,2
DH1700406	95,3	113,8	-1,3	15,5	23,4	-0,9	0	3	1,1	6,5	8,1	-0,9
DH1700407	97,5	109,2	-0,2	34,0	35,5	-0,3	10	0	1,48*	8,0	6,0	1,2
Poblaciones fuente	DM(cm)			NS			NH			PS(g)		
	DHs	FP	Z	DHs	FP	Z	DHs	FP	Z	DHs	FP	Z
DH1700383	6,8	9,7	0,6	11	52	0,6	5	9	0,6	3,1	22,4	0,6
DH1700389	7,2	10,8	-1,74*	18	105	-1,74*	5	11	-1,57*	5,1	32,8	-1,74*
DH1700390	2,9	4,4	-1,34*	32	62	-1,59*	7	10	-1,41*	10,3	15,4	-1,17
DH1700391	9,0	10,6	-1,01	4	82	-1,25	3	10	-1,29	1,5	26,9	-1,25
DH1700394	10,3	9,9	0,0	10	35	-1,17	6	7	-0,16	1,8	3,2	0,0
DH1700397	8,3	9,8	-0,9	5	25	-1,4	4	7	-1,2	1,1	9,4	-0,9
DH1700398	4,3	4,7	0,0	42	56	0,0	7	10	0,0	8,3	12,5	0,0
DH1700400	2,7	4,0	-0,9	3	20	-1,94**	2	4	-1,64*	0,7	6,9	-1,3
DH1700401	2,8	4,4	2,66**	5	33	2,43**	2	8	2,4**	0,8	11,1	2,24**
DH1700405	3,3	4,8	2,2**	2	33	2,78**	2	9	2,86**	0,6	11,1	2,76**
DH1700406	3,6	4,8	-2,0**	10	34	-2,34**	5	8	-2,15**	3,2	13,3	-2,32**
DH1700407	2,9	5,1	-1,53*	2	59	-1,83**	2	8	-1,69*	0,5	17,1	-1,5*

*,**Diferencia a los niveles de 5 y 1% de probabilidad, respectivamente, por la prueba de Wilcoxon. FM=floración masculina; FF=floración femenina; LP=Longitud de panoja; NRP=Número de ramificaciones de la panoja; AP=Altura de planta; AE= altura de inserción de la 1ª mazorca; LM=Longitud de la mazorca; DM=diámetro de la mazorca; NS=número de semillas por mazorca; NH=número de hileras de semillas; PS=peso de las semillas.

Tabla 1. Valores promedios de 12 características agronómicas y valor de Z evaluados en 12 líneas doble haploides y falsos-positivos de maíz. Sete Lagoas, MG, enero de 2018.