



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
Campo Experimental Villarino C.C. N° 14
S2125ZAA | Zavalla | Santa Fe | Argentina
Tel/Fax: +54 0341 497-0080
www.fcagr.unr.edu.ar
agro@unr.edu.ar



7

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

8

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

9

10 **DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE QTLSPARA MECANISMOS FISIOLÓGICOS**
11 **RELACIONADOS CON EL PESO FINAL DE LOS GRANOS, SUS PATRONES DE**
12 **CRECIMIENTO Y CON EL SECADO DE LOS GRANOS DE MAÍZ.**

13

ING. AGR. AGUSTÍN EDUARDO CRESTA

14

15 **TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE MAGISTER EN GENÉTICA VEGETAL**

16

17

DIRECTOR: DR. LUCAS BORRÁS

18

19

CO-DIRECTOR: DR GUILLERMO PIZARRO

20

21

2018

22 **DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE QTLS PARA MECANISMOS FISIOLÓGICOS**
23 **RELACIONADOS CON EL PESO FINAL DE LOS GRANOS, SUS PATRONES DE**
24 **CRECIMIENTO Y CON EL SECADO DE LOS GRANOS DE MAÍZ**

25 Agustín Eduardo Cresta

26 Ingeniero Agrónomo – Universidad Nacional de Buenos Aires

27

28 Esta Tesis es presentada como parte de los requisitos para optar al grado académico
29 de Magister en Genética Vegetal, de la Universidad Nacional de Rosario y no ha sido
30 previamente presentada para la obtención de otro título en ésta u otra Universidad. La
31 misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en la empresa
32 Syngenta Agro SA, durante el periodo comprendido entre octubre de 2014 y diciembre del
33 2015, bajo la dirección del Dr. Lucas Borrás.

34

35 Ing. Agr. Agustín Eduardo Cresta

36 Maestrando

37

38 Dr. Lucas Borrás

39 Director

40

41 Dr. Guillermo Pizarro

42 Co-director

43

44 Defendida: de 20_____.

45

46

47

AGRADECIMIENTOS

48 Agradezco a todas las personas que me apoyaron en este camino, especialmente a
49 mis compañeros de Earliness Guillermo Pizarro, Juan Magaz; mi director Lucas Borrás, a
50 Mariano Battista y Gonzalo Grigera por alentarme a terminar, mis compañeros de maestría,
51 mi familia que siempre me apoyo, el equipo de Agldea USA por tenerme paciencia, a todos
52 mis amigos y especialmente a Santiago Tamagno y por último a Mariela que me banco para
53 terminarla.

54

55

56

57

58

59

60

61

62

63

64

65

66

67

68

69

70

71	ÍNDICE	
72	ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	5
73	RESUMEN	7
74	ABSTRACT	8
75	INTRODUCCIÓN	9
76	Peso final de granos.	10
77	Secado de granos	12
78	OBJETIVOS E HIPÓTESIS	14
79	Objetivo general	14
80	Objetivos específico	14
81	Hipótesis	14
82	MATERIALES Y MÉTODOS	16
83	Material vegetal	16
84	Experimento a campo	16
85	Mediciones fenotípicas	16
86	<i>Fenología</i>	16
87	<i>Peso de grano y patrones de crecimiento</i>	17
88	<i>Tasa y duración de secado de granos</i>	19
89	Análisis estadístico	20
90	Genotipado de SNPs	22
91	Construcción del mapa genética	23
92	Análisis de QTL	23

93	RESULTADOS	26
94	Mediciones fenotípicas	26
95	<i>Caracteres fenológicos</i>	26
96	<i>Peso de grano y patrones de crecimiento</i>	28
97	<i>Tasa y duración de secado</i>	30
98	<i>Correlación entre caracteres</i>	32
99	Mapeo de QTL	36
100	DISCUSIÓN	43
101	CONCLUSIONES	48
102	BIBLIOGRAFÍA	49
103		

104

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

- 105 **BLUP:** “Best Linear Unbiased Predictor”. Mejor predictor lineal insesgado
- 106 **CAG:** contenido de agua en el grano
- 107 **CH:** concentración de humedad
- 108 **CHMF:** contenido de humedad a madurez comercial
- 109 **CHMF:** contenido de humedad a madurez fisiológica
- 110 **cM:** centimorgan
- 111 **CV:** coeficiente de variación
- 112 **DH:** dobles haploides
- 113 **DLLG:** duración del llenado de granos
- 114 **DSG:** duración del secado de granos
- 115 **H²:** heredabilidad en sentido amplio
- 116 **HG:** humedad final de los granos
- 117 **LOD:** logaritmo de Odds
- 118 **MCAG:** máximo contenido de agua en el grano
- 119 **PG:** peso final de los granos
- 120 **QTL:** “Quantitative Trait Loci”, loci de caracteres cuantitativos
- 121 **r:** frecuencia de recombinación
- 122 **RIL:** “Recombinant Inbred Line”, línea endocriada recombinante
- 123 **SNPs:** “Single Nucleotide Polymorphism”, polimorfismo de nucleótido simple
- 124 **TCG:** tasa de crecimiento de granos
- 125 **TDG:** tasa de disecación de granos (variable asociada a la etapa del llenado de granos)

- 126 **TSG:** tasa de secado de granos (variable asociada a la etapa de secado de granos)
- 127 **TTA:** tiempo térmico desde siembra a antesis
- 128 **TT:** Tiempo Térmico
- 129 **TTMC:** tiempo térmico desde siembra a madurez comercial
- 130 **TTMF:** tiempo térmico desde siembra a madurez fisiológica
- 131 **VFE (%):** variación fenotípica explicada
- 132

133

RESUMEN

134 Los cambios operados en los últimos años en la estrategia de siembra del cultivo de
135 maíz en diferentes regiones ubica el período entre floración y madurez comercial en
136 condiciones climáticas contraproducentes para la pérdida de humedad de los granos. El
137 período de madurez de los granos de maíz, se dividió en dos etapas, primero desde
138 floración hasta madurez fisiológica, donde se define el peso de grano (PG), y segundo la
139 etapa de secado de granos, donde se define la humedad del grano (HG) a cosecha. El
140 objetivo de la presente tesis fue estudiar las bases genéticas (QTL) de la maduración de los
141 granos de maíz en una población de 173 líneas doble haploide (DH). Los caracteres
142 evaluados se descompusieron en atributos simples, y existió variabilidad fenotípica para
143 todos los caracteres estudiados ($p < 0,001$). También se observó que genotipos con tiempo
144 térmico (TTA) similares, pueden tener duraciones de llenado de grano (DLLG) muy
145 diferentes. No existe una correlación significativa entre el contenido de humedad de los
146 granos a madurez fisiológica (CHMF) y la duración del secado los granos (DSG), por lo
147 tanto, los genotipos pueden tener diferentes DLLG y valor similares DSG. Se observó que a
148 medida que el CHMF es mayor, la Tasa de secado de granos (TSG) también lo es. Esto
149 podría indicar, que el CHMF condiciona en parte a la TSG. Se detectaron 29 QTL
150 ($LOD \geq 2,5$). La variación fenotípica explicada (VFE) por carácter, vario desde 7 a 60%. La
151 ubicación conjunta de QTL para PG, DLLG, tasa de crecimiento de los granos (TCG),
152 máximo contenido de agua en los granos (MCAG), CHMF, TSG y DSG, ayudan a explicar
153 las correlaciones fenotípicas observadas. Los resultados obtenidos aportan al conocimiento
154 actual de las bases genéticas de la maduración los granos de maíz a través del análisis
155 fenotípico y la identificación de QTL de caracteres asociados a la determinación del PG y el
156 secado de los granos.

157 Palabras clave: QTL, llenado de granos, secado de granos.

158
159
160
161
162
163
164
165
166
167
168
169
170
171
172
173
174
175
176
177
178
179

ABSTRACT

**DETECTION AND CHARACTERIZATION OF QTLS OF PHYSIOLOGICAL MECHANISMS
RELATED TO THE FINAL KERNELWEIGHT, IT'S PATTERNS OF GROWTH AND THE
DRYDOWN OF MAIZE KERNEL**

Corn planting date strategy has changed in the last few years in some regions. The planting date has been delayed and this change has exposed the period between flowering and harvest to unfavorable weather conditions for the loss of grain moisture content. This period is traditionally divided in two phases, the first one from flowering to physiological maturity, where the PG is defined, and the second, the dry down phase, in which the grain moisture at harvest is determined. The goal of this project was to study the genetic bases of the maturation of corn kernel in a population of 173 DH. These two phases have been dissected in simple traits and they were evaluated in a field. Significant differences were observed for all the traits ($p < 0,001$). Genotypes with similar TTA could have very dissimilar DLLG. There was not significant correlation between CHMF and the DSG, so genotypes could have different DLLG and similar DSG. As the CHMF increases, the TSG is higher. This could indicate that the CHMF determines a part of the TSG. Twenty-nine QTL have been detected ($LOD \geq 2,5$). The VFE (%) by trait, varied from 7 to 60%. Several colocalizations of QTL for PG, DLLG, TCG, MCAG, CHMF, TSG y DSG were detected. This result helps to explain the phenotypic correlations between traits. The results of this study helped increase the knowledge about the maturation of corn kernels, through the phenotypic analysis and the identification of QTL related to the PG and the definition of kernel moisture at harvest.

INTRODUCCIÓN

180

181 Los mejores híbridos de maíz (*Zea mays*) para una región específica son aquellos
182 que exploran por completo el ciclo de crecimiento, adecuándose a las limitaciones del
183 entorno local. Cuanto más largo sea el ciclo de crecimiento, mayor será el grupo de madurez
184 (entendido como el tiempo entre la siembra y la madurez) de los híbridos adaptados a este
185 ambiente particular. En bajas latitudes, donde la temperatura y la radiación no varían mucho
186 a lo largo del año, los híbridos de ciclo largo (para estas regiones, materiales tropicales y
187 subtropicales) son generalmente los más adecuados ya que tienen rendimientos potenciales
188 mayores y aprovechan los recursos del ambiente más eficientemente que híbridos de ciclo
189 más corto (Laffite y Edmeades, 1997; Bruns y Abbas, 2006). Por el contrario, en latitudes
190 altas, la radiación y la temperatura disminuyen notablemente durante el llenado del grano y
191 el rendimiento en kilogramos de grano por hectárea generalmente disminuye a medida que
192 aumenta el ciclo de madurez de los híbridos (Ruget, 1993).

193 En Argentina la región maicera central está ubicada entre 32° y 35°S, donde los
194 híbridos templados de ciclo largo producen generalmente el máximo rendimiento (Otegui et
195 al., 1995). En los últimos años, la producción de maíz en Argentina ha sufrido cambios
196 culturales muy importantes ya que por un lado el área cultivada se expandió al sur del
197 paralelo 37°S (Calviño et al., 2003). Y además la estrategia de siembras tardías ha crecido
198 considerablemente con el objetivo de evitar que el período de floración coincida con el
199 momento del año cuando las probabilidades de ocurrencia de déficit hídrico y estrés térmico
200 son más altas. En comparación con las regiones productivas y fechas de siembra
201 tradicionales del cultivo de maíz, estas nuevas áreas y cultura de producción exponen al
202 período de llenado de granos a condiciones climáticas desfavorables para la pérdida de
203 humedad de los granos, debido a bajas temperaturas y alta humedad relativa del aire
204 provocando que el cultivo de maíz alcance la madurez comercial más lentamente. Este
205 ambiente contraproducente para alcanzar la madurez comercial incrementa la
206 susceptibilidad del cultivo a volcarse, quebrarse, enfermarse y de esta manera perjudicar
207 negativamente el margen bruto, ya sea por una reducción de la cantidad de grano
208 cosechado, mermas de calidad o gastos de secado artificial. En nuestro país casi el 80% del
209 maíz producido se cosecha con un contenido de humedad superior a la establecida para
210 recibo (mayor a 14.5%). El impacto económico del secado artificial es negativo y, por otro
211 lado, el secado excesivo puede provocar efectos de pérdida en la calidad de grano para
212 determinadas industrias, como ser las fisuras para la molienda seca (Precop, 2006).

213

214 Los cambios en la producción de maíz anteriormente mencionados obligan a los
215 programas de mejoramiento a ofrecer materiales que se adapten mejor a condiciones
216 ambientales desfavorables durante el llenado y secado de granos sin perder potencial de
217 rendimiento. Y como el rendimiento y la humedad de los granos a cosecha están
218 correlacionados positivamente (Hallauer y Miranda 1988; Mather y Kannenberg 1989) este
219 objetivo puede ser difícil de alcanzar sin afectar negativamente los rendimientos. Los
220 cambios de objetivos en los programas comerciales de mejoramiento enfocados a capturar
221 un segmento del mercado de maíz pueden llevar muchos años, pueden ocurrir cinco años,
222 desde que comienza el desarrollo de las poblaciones de mapeo de QTL hasta que comienza
223 el ciclo de mejoramiento asistido por marcadores moleculares, al cual se aplica una
224 selección asistida mediante los QTL encontrados en estas poblaciones. De ahí en adelante
225 transcurren varios años entre 5 y 8 hasta lograr un producto comercial con las
226 características deseadas.

227 En el presente trabajo de tesis se plantea el estudio de un modelo ecofisiológico que
228 brinde información genética y fenotípica para definir una estrategia de mejoramiento con el
229 objetivo de lograr genotipos que en un ambiente particular logren alcanzar la cosecha con un
230 menor contenido de humedad sin reducir su potencial de rendimiento. El modelo
231 ecofisiológico planteado consta de diseccionar en caracteres simples dos caracteres
232 complejos, como son la determinación del peso final de los granos (PG) y la humedad final
233 de los granos (HG).

234 **Peso final de granos**

235 El rendimiento en grano de cultivos extensivos es considerado un carácter complejo.
236 Una manera común de simplificar esta complejidad es estudiar los mecanismos fisiológicos
237 relacionados a la determinación de los principales componentes del mismo, el número de
238 granos por unidad de superficie y el PG. Si bien el número de granos es el componente que
239 explica en mayor medida el rendimiento, ambos componentes afectan el rendimiento final
240 (Borrás y Gambín, 2010). El PG varía significativamente entre genotipos de una misma
241 especie cultivada sin restricciones ambientales. El PG es largamente controlado
242 genéticamente, es decir es constante a través de distintos ambientes (Reddy y Daynard,
243 1983), y la variabilidad genotípica es generada por la combinación entre la tasa de
244 crecimiento de granos (TCG) y la duración del llenado de granos (DLLG). La variabilidad
245 genética para el llenado de granos ha sido estudiada en líneas de maíces élitos locales y
246 exóticas y también en diversos híbridos comerciales en diferentes regiones agroecológicas

247 (Cross, 1985; Gambín *et al.*, 2007; Borrás *et al.*, 2009). Gambín *et al.*, (2007) caracterizó
248 diversos híbridos comerciales de Argentinas y mostró que las diferencias en PG eran
249 consecuencia de distintas combinaciones entre TCG y la DLLG. Resultados similares fueron
250 encontrados por Borrás *et al.* (2009), quienes caracterizaron 60 líneas adaptadas a la región
251 central de Estados Unidos.

252 El desarrollo de los granos es comúnmente dividido en tres fases: la fase lag, la
253 etapa de llenado efectivo de los granos y la fase de maduración (Bewley y Black, 1985). La
254 fase lag es un período de división celular activa caracterizada por el rápido incremento del
255 contenido de agua en el grano ($\text{mg de agua grano}^{-1}$) con relativamente poca acumulación de
256 materia seca. Luego de la fase lag, ocurre el periodo de rápida acumulación de materia seca
257 como resultado de la diferenciación celular y la acumulación de reservas. Esta etapa es
258 referida como la fase de llenado efectivo de granos. Así como sucede en la fase lag, el
259 contenido de agua se incrementa continuamente de manera rápida durante esta etapa y
260 eventualmente se establece el máximo volumen de grano (Gambín *et al.*, 2007). De aquí en
261 adelante, los granos de maíz sufren una pérdida neta de agua. Durante la tercera etapa de
262 desarrollo, se alcanza la madurez fisiológica (máximo contenido de materia seca en los
263 granos), y entran en un estado de inactividad (Bewley and Black, 1985). La concentración de
264 humedad de los granos decae a través de las tres fases de desarrollo. Esta pérdida es más
265 evidente después de que los granos alcanzan el estado de madurez fisiológica, pero
266 también ocurre durante los diferentes períodos de llenado, incluso cuando el contenido de
267 agua se incrementa rápidamente (Borrás *et al.*, 2003).

268 Varios estudios de mapeo de QTL para el PG han sido conducidos y han reportado
269 inconsistencia en términos de efecto y localización (Schon *et al.*, 1994; Austin y Lee, 1996 y
270 1998; Frova *et al.*, 1999; Alvarez Prado *et al.*, 2013 y 2014). La falta de coherencia podría
271 estar relacionada con la complejidad del carácter, necesitando una mayor descomposición
272 en componentes más simples. El PG comúnmente se descompone en sus componentes
273 fisiológicos la TCG y la DLLG. Estos rasgos se rigen por diferentes mecanismos fisiológicos
274 (Borrás y Gambín, 2010) y dependiendo del germoplasma específico utilizado en cada
275 estudio, la variabilidad del PG podría estar relacionada con diferencias genotípicas en TCG y
276 DLLG. Estos mecanismos diferenciales detrás de las diferencias genéticas en el PG pueden
277 generar QTL inconsistentes cuando se compara localizaciones en diferentes germoplasmas.
278 Sin embargo Alvarez Prado *et al.* (2014) encontraron localizaciones comunes de QTL para
279 caracteres relacionados fisiológicamente con el PG en una población multiparental.

280 **Secado de granos**

281 La HG es un carácter muy importante para la producción comercial y para los
282 programas de mejoramiento de maíz. Esto se basa en que los cultivos con baja humedad a
283 cosecha reducen el impacto económico del secado artificial sobre el margen bruto final del
284 cultivo (Dijak *et al.*, 1999; Sweeney *et al.*, 1994). La tasa de secado de granos (TSG) y el
285 grupo de madurez (comúnmente denominado madurez relativa en maíz) son críticos para la
286 determinación de la HG. La TSG se define como la tasa de pérdida de humedad de los
287 granos durante el período desde madurez fisiológica hasta la cosecha. Durante este
288 período, la pérdida de humedad de los granos está asociada mayormente a las condiciones
289 climáticas como la temperatura y la humedad relativa del aire (Schmidt y Hallauer, 1966).
290 Sin embargo, existen rasgos morfo-fisiológicos del cultivo que ejercen influencia sobre la
291 TSG a campo (Troyer y Ambrose, 1971). Algunos de estos rasgos pueden ser propiedades
292 intrínsecas del grano, como ser la textura o forma. También existen características
293 intrínsecas de la planta que afectan el secado, como la estructura de las espigas, las chalas
294 y la ubicación de la espiga en la planta.

295 Las bases genéticas de la TSG y la HG ya han sido estudiadas y descritas por
296 diversos autores (Purdy y Crane, 1967; Sentz, 1971; Zhang *et al.*, 1996). La HG se define
297 por la combinación de la TSG y la duración de secado de granos (DSG) al alcanzar la
298 humedad estándar de comercialización de granos de maíz establecida para cada región. La
299 selección de parentales para generar híbridos con baja humedad de granos a cosecha es
300 posible a través de la selección por HG o TSG (Sweeney *et al.*, 1994). También la selección
301 de parentales con baja humedad de grano 45 días después de la polinización fue efectiva y
302 logro reducir la HG (Cross, 1985; Freppon *et al.*, 1992). Sin embargo, el rendimiento y HG
303 están positivamente correlacionados (Hallauer y Miranda, 1988; Mather y Kannenberg,
304 1989) ya que ambas variables están asociadas con el grupo de madurez (Lauer *et al.*, 1999).
305 La selección de materiales con alta TSG permitirá a los fitomejoradores obtener híbridos de
306 alto rendimiento disminuyendo el efecto negativo de incrementar el grupo de madurez sobre
307 la HG.

308 La mayoría de las investigaciones genéticas sobre la HG han utilizado el
309 mejoramiento convencional y procedimientos biométricos para descomponer la variación
310 observada en estos caracteres, lo que permite obtener sólo información general sobre su
311 herencia (Simko *et al.*, 1997). Por otro lado la disponibilidad de tecnologías de marcadores
312 de ADN, ha provisto de nuevas herramientas para el análisis y la disección de caracteres de

313 herencia compleja. Con la ayuda de marcadores moleculares, es posible identificar las
314 regiones cromosómicas asociadas a los caracteres de interés (QTL) como punto de partida
315 para la selección asistida por marcadores (MAS; Papst *et al.*, 2004). La correspondencia
316 entre QTL y caracteres asociados a la HG en poblaciones F_{2:3} y generaciones avanzadas
317 han sido reportadas por varios autores en varios trabajos (Sala *et al.*, 2006, Austin *et al.*,
318 2000; Beavis *et al.*, 1994; Melchinger *et al.*, 1998; Mihaljevic *et al.*, 2005).

319

320

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

321 **Objetivo general:**

322 Brindar información que permita definir una estrategia de mejoramiento para reducir
323 la HG y no perder potencial de rendimiento a través del estudio de las bases genéticas
324 (QTL) y las relaciones fisiológicas de la maduración de los granos de maíz desde su fijación
325 hasta la cosecha, estudiando los caracteres asociados al peso final de los granos y a la
326 etapa de secado de los mismos.

327 **Objetivos específicos:**

328 1. Explorar la variabilidad fenotípica en una población de mapeo de dobles haploides de
329 maíz para:

330 • El peso final de los granos y sus patrones de crecimiento.

331 • La determinación de la humedad de los granos a cosecha.

332 2. Realizar un análisis genético para la detección de QTL asociados con cada carácter
333 del modelo ecofisiológico planteado.

334 **Hipótesis:**

335 • Existe variabilidad fenotípica para los caracteres estudiados.

336 • Existe independencia entre la etapa siembra y antesis con las etapas de llenado de
337 granos y secado de los mismos.

338 • Existe una relación entre los caracteres relacionados con la determinación del peso
339 de grano y aquellos que definen la humedad a cosecha.

340 • Es posible detectar QTL para los caracteres estudiados.

341 • Existen interacciones epistáticas entre los caracteres que definen el peso final de los
342 granos y la duración del secado.

343 • Existen regiones cromosómicas comunes para caracteres relacionados
344 fisiológicamente.

- 345
- 346
- 347
- Los QTL encontrados para la población y ambiente bajo estudio coinciden con los encontrados en otras poblaciones y ambientes o son consistentes con los QTL encontrados en otras investigaciones.

348

MATERIALES Y MÉTODOS

349 **Material Vegetal**

350 Se utilizó una población de doble haploides derivados de una F1, propiedad de
351 Syngenta S.A. compuesta por 173 líneas, derivadas de un cruzamiento entre dos padres
352 contrastantes en ciclo y textura de grano: P317 y P351; textura flint y ciclo largo, y textura
353 dentada y ciclo corto, respectivamente.

354 **Experimento a Campo**

355 El experimento se llevó a cabo durante la campaña 2014/15 en la Estación
356 Experimental de Syngenta Agro SA (-33.884832°S, -61.624755°O; elevación 107 m.s.n.m),
357 ubicada en la localidad de Santa Isabel, en el sur de Santa Fe. La fecha de siembra fue el 24
358 Octubre del 2014.

359 El diseño del ensayo fue en bloques completos al azar con 3 repeticiones. Las
360 parcelas a utilizadas fueron de ocho surcos separados por 0.70 metros y 5 metros de largo,
361 sembradas en siembra directa con una sembradora experimental neumática. El ensayo fue
362 conducido sin limitaciones hídricas, nutricionales, libre de malezas y enfermedades. Las
363 variables ambientales fueron registradas en una estación meteorológica a menos de 200
364 metros del experimento.

365 **Mediciones Fenotípicas**

366 *Fenología*

367 Se registró el tiempo a antesis, calculado como el tiempo térmico (TTA), desde la
368 siembra hasta que en el 50% de las panojas emitían polen. El tiempo térmico fue calculado
369 usando 8 °C como temperatura base (Ritchie y NeSmith 1991). Para este carácter hubo un
370 error en la carga de los datos, registrándose solo el dato de una repetición y este fue el valor
371 utilizado para las repeticiones restantes

372 *Peso de grano y patrones del crecimiento*

373 Siguiendo la metodología propuesta por Borrás *et al.* (2009) y Alvarez Prado *et al.*
374 (2013) la materia seca del grano y su contenido de agua fue medido desde 15 días después
375 de que cada parcela alcanzó antesis hasta la madurez comercial, que fue determinada en
376 14.5% de humedad en el grano. Una planta por parcela fue muestreada cada semana entre

377 las 7 am y 12 am. Las espigas completas incluyendo a las chalas fueron colectadas en
378 bolsas de plástico en el campo y transportadas hasta el laboratorio. Los granos fueron
379 removidos de las posiciones florales 8 a la 15 contando desde la parte inferior del raquis de
380 la espiga dentro de una caja húmeda. Quince granos fueron removidos por espiga. El peso
381 fresco de los granos fue medido inmediatamente y el peso seco fue determinado después de
382 secar las muestras en estufa a 70°C, al menos por un tiempo de 96 horas. El peso fresco y
383 seco fueron utilizados para determinar el contenido de agua de los granos (mg de agua por
384 grano) y su contenido de humedad. Aquellas espigas con una disposición de granos no
385 uniforme debido a fallas en polinización fueron descartadas para evitar efectos confundidos
386 en el fenotipado, debido a que un menor número de destinos producto de fallas en la
387 polinización puede aumentar el peso de los granos ante una misma cantidad de fuente.
388 También se evitó tomar muestras de espigas de los extremos del surco para evitar tomar
389 datos de plantas que no tuvieron competencia plena.

390 La tasa de crecimiento de los granos (TCG) y la duración de llenado de granos
391 (DLLG) fueron determinadas para cada combinación de genotipo x repetición ajustando un
392 modelo bilineal usado por Borrás *et al.*, (2009) (Ecuación [1] y [2]):

393

$$PG = a + b TT \text{ para } TT \leq c [1]$$

$$PG = a + bc \text{ para } TT > c [2]$$

394

395 Donde el TT es el tiempo térmico después de anthesis (°C día), *a* es la ordenada al
396 origen (mg ⁻¹), *b* es la tasa de crecimiento de granos (TCG) durante el periodo efectivo de
397 llenado (mg °C día ⁻¹), y *c* es la duración efectiva del llenado de granos (DLLG) (°C día). El
398 TT fue calculado usando 0° como temperatura base (Muchow, 1990; Borrás *et al.*, 2009). El
399 modelo bilineal fue ajustado usando el programa estadístico GraphPad Prism V5.0
400 (Radushev, 2007) para cada genotipo por repetición. Los valores de r² ajustados variaron
401 entre 0.69 y 0.99. Así se obtuvieron tres estimaciones de cada carácter y de esta manera se
402 analizó la variabilidad entre repeticiones. El tiempo térmico a madurez fisiológica (TTMF) fue
403 calculado sumando el TTA y la DLLG para cada combinación de genotipo por repetición.

404 El máximo contenido de agua en el grano (MCAG) fue determinado para la
405 combinación de cada genotipo por repetición ajustando una curva siguiendo Borrás *et al.*,
406 (2009) (Ecuación [3]):

407

$$\text{CAG} = d + e \text{ TT} + f \text{ TT}^{1.5} + g \text{ TT}^2 \quad [3]$$

408

409 Donde el CAG es contenido de agua en el grano y d , e , f y g son parámetros del
410 modelo. El modelo curvilíneo fue ajustado a los datos de contenido de agua utilizando,
411 también, el programa estadístico GraphPad Prism V5.0 (Radushev, 2007) para cada
412 genotipo por repetición. Los valores ajustados de r^2 siempre fueron mayores a 0.69. **Esta**
413 **metodología es similar a trabajos previos en la literatura (Gambín *et al.*, 2007; Borrás *et al.*,**
414 **2009).**

415 Por otro lado, el contenido de humedad madurez fisiológica (CHMF) fue determinado
416 usando un modelo bilineal que relaciona el peso seco de los granos (PG) y la concentración
417 de humedad de los mismos (CH) siguiendo a Borrás *et al.* (2009) (Ecuación [4] y [5]):

418

$$\text{PG} = h - i \text{ CH para } \text{CH} \geq j \quad [4]$$

$$\text{PG} = h - ij \text{ para } \text{CH} < j \quad [5]$$

419

420 Donde CH es la concentración de humedad (%), h es la ordenada al origen (mg^{-1}), i
421 es tasa a la que decae el contenido de humedad de los granos durante el llenado (mg grano^{-1}
422 $[\%]^{-1}$), y j es el CHMF (%). El modelo fue ajustado usando el programa estadístico
423 GraphPad Prism V5.0 (Radushev, 2007) para cada genotipo por repetición. Los valores de
424 r^2 ajustado variaron entre 0.68 y 0.99.

425 La tasa de disecación de grano (TDG) fue ajustada usando una regresión lineal para
426 cada genotipo por repetición, relacionando el CH y el TT desde floración hasta la madurez
427 fisiológica:

428

$$CH = k + l TT \quad [6]$$

429

430 Donde CH es la concentración de humedad de los granos (g kg^{-1}), k es la ordenada
431 al origen (g kg^{-1}), l es la tasa de disecado de los granos (TDG) ($\text{g kg}^{-1}\text{°C día}^{-1}$). El modelo
432 fue ajustado usando el programa estadístico GraphPad Prism V5.0 (Radushev, 2007) para
433 cada genotipo por repetición. Los valores de r^2 ajustado variaron entre 0.68 y 0.99.

434 *Tasa y duración del secado de granos*

435 La tasa de secado de grano (TSG) y la duración del secado de granos (DSG) fueron
436 determinadas para cada combinación de genotipo x repetición ajustando un modelo bilineal
437 usado por (Ecuación [7] y [8]):

438

$$CHMC = a - b TT \text{ para } TT \leq c \quad [7]$$

$$CHMC = a - bc \text{ para } TT > c \quad [8]$$

439

440 Donde CHMC es la concentración de humedad de los granos a madurez comercial (g
441 kg^{-1}), el TT es el tiempo térmico después de madurez fisiológica (°C día), a es la ordenada
442 al origen (g kg^{-1}), b es la tasa de secado de granos (TSG) (g kg^{-1}), y c es la duración del
443 secado de granos (DSG) (°C día). El modelo bilineal fue ajustado usando el programa
444 estadístico GraphPad Prism V5.0 (Radushev, 2007) para cada genotipo por repetición. Los
445 valores de r^2 ajustados variaron ente 0.45 y 0.99. El tiempo térmico a madurez comercial
446 (TTMC), se calculó sumando el TTMF y la DSG para cada combinación de genotipo por
447 repetición.

448

449 **Análisis estadístico**

450 Los datos fenotípicos de TTA, PG, TCG, DLLG, MCAG, TDG, CHMF, TTMF, TSG,
451 DSG y TTMC, fueron analizados utilizando un modelo lineal mixto, método REML Infostat (Di
452 Rienzo *et al.*, 2018). El conjunto de datos consistió de i genotipos (incluyendo a los
453 parentales), repetidos en j bloques ($i = 175$ y $j = 3$). Se definió un vector “ y ” $N \times 1$, con $N = ijk$
454 que contiene todas las observaciones ordenadas por carácter dentro de cada genotipo para
455 cada bloque (Malosetti *et al.*, 2008; Alvarez Prado *et al.*, 2013). Los bloques y genotipos
456 fueron considerados como efectos aleatorios con efectos cruzados. Además, para cada
457 carácter se calculó el coeficiente de variación (CV) como la relación entre el desvío estándar
458 y la media de la población. El modelo lineal mixto quedó representado con la siguiente
459 ecuación:

460

$$y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + ab_{ij} + e_{ijk} [9]$$

$$a_i \sim N(0, \sigma_a^2), b_j \sim N(0, \sigma_b^2)$$

$$ab_{ij} \sim N(0, \sigma_{ab}^2), e_{ijk} \sim N(0, \sigma_e^2)$$

461

462 Donde y_{ijk} es la respuesta del i -ésimo genotipo en el j -ésimo bloque; μ es la media
463 de los caracteres; a_i los efectos aleatorios de los genotipos; b_j los efectos aleatorios de los
464 bloques; ab_{ij} es el efecto de la interacción de los genotipos y los bloques; y e_{ijk} es el término
465 del error no genético asociado a la observación y_{ijk} . Los a_i y b_j se consideran como efectos
466 aleatorios igualmente distribuidos $N(0, \sigma_a^2)$ y $N(0, \sigma_b^2)$ respectivamente. Los e_{ijk} también se
467 consideran como variables aleatorias idénticamente distribuidas $N(0, \sigma_e^2)$ y describen a los
468 errores aleatorios asociados a cada observación. La normalidad de la distribución de los
469 residuos del modelo fue evaluada a través de la prueba de Shapiro-Wilks (1965).

470 A partir del modelo planteado se estimó el mejor predictor lineal insesgado (BLUP)
471 para para cada carácter y cada genotipo (Borevitz *et al.*, 2002; Zalapa *et al.*, 2007). En base
472 a los BLUPs obtenidos, se calcularon las medias ajustadas para los caracteres analizados
473 (TTA_{aj}, PG_{aj}, TCG_{aj}, DLLG_{aj}, MCAG_{aj}, TDG_{aj}, CHMF_{aj}, TTMF_{aj}, TSG_{aj}, DSG_{aj} y TTMC_{aj}):

474

$$Y_{aj_i} = \mu + BLUP_i \quad [10]$$

$$Y_{aj_{ij}} = \mu + BLUP_{ij} \quad [11]$$

475

476 Donde Y_{aj_i} es la media ajustada de los distintos caracteres i -ésimo genotipo, $Y_{aj_{ij}}$ es
477 la media ajustada del i -ésimo genotipo en el del j -ésimo bloque, μ es la media general,
478 $BLUP_i$ es el BLUP del i -ésimo genotipo y $BLUP_{ij}$ es el BLUP de la interacción del i -ésimo
479 genotipo por el j -ésimo bloque. Dado que se excluye a los efectos del error experimental en
480 su cálculo, los valores ajustados permiten predecir los efectos genéticos de genotipos para
481 cada uno de los caracteres estudiados (TTA, PG, TCG, DLLG, MCAG, TDG, CHMF, TTMF,
482 TSG, DSG y TTMC).

483 En base a las variancias resultantes de los modelos implementados, se calculó la
484 heredabilidad en sentido amplio (H^2) para cada carácter en las 173 líneas doble haploides
485 estudiadas mediante el método descrito por Hallauer y Miranda (1988):

486

$$H^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_G^2 + \frac{\sigma_e^2}{r}} \quad [12]$$

487

488 Siendo σ_G^2 la variancia genotípica, σ_e^2 la variancia residual de la parcela, y r es el
489 número de repeticiones.

490 Por último, se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson “ r ” para medir el grado
491 de asociación entre los atributos. Estas correlaciones fueron realizadas con las medias
492 fenotípicas ajustadas de los genotipos para cada carácter.

493 **Genotipado de marcadores moleculares de polimorfismo de nucleótido simple (SNP)**

494 Se obtuvo una muestra en masa de tejido foliar a partir de un número significativo de
495 plantas de cada línea, del cual se extrajo ADN según el método propuesto por Saghai
496 Maroof *et al.* (1984). El genotipado se realizó con un proveedor externo del servicio usando
497 la plataforma de la tecnología Infinium (*Infinium HD Ultra*, en [https://www.illumina.com/products/by-](https://www.illumina.com/products/by-type/microarray-kits/maize-ld.html)
498 [type/microarray-kits/maize-ld.html](https://www.illumina.com/products/by-type/microarray-kits/maize-ld.html), visitado 10/12/2018) con aproximadamente 3000 marcadores
499 (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) de tipo SNP distribuidos uniformemente a lo largo de
500 genoma de maíz de acuerdo a la secuencia de referencia del genotipo B73 (Ganal *et al.*,
501 2011).

502 La limpieza de matriz de datos a ser utilizada en la el análisis de caracterización
503 molecular y la construcción del mapa genético fue realizada en los siguientes pasos:

- 504 1. SNPs con más de 10% de datos perdidos fueron descartados (también fueron
505 considerados como faltantes aquellos datos en estado heterocigoto por la
506 imposibilidad de analizarlo en líneas doble haploide).
- 507 2. También se descartaron aquellos SNPs con frecuencia del alelos menor al 10 % por
508 considerarlos no polimórficos.
- 509 3. Se verificó la segregación mendeliana 1:1 a través de X^2 (Chi-Cuadrado) (Kearsey y
510 Pooni, 1996) y aquellos marcadores que presentaban una distorsión a lo esperado
511 según Mendel, fueron descartados.
- 512 4. Descarte de líneas por heterocigosis (descartar individuos).
- 513 5. Descarte de individuos de la población por falta de datos fenotípicos.

514

515 Construcción del mapa genético

516 En total 998 marcadores SNP fueron incluidos en el mapa genético. Para la
517 construcción del mapa se tuvo en cuenta en cuál cromosoma se encontraba cada marcador
518 a partir de la base de datos original. Sin embargo, la posición genética dentro de cada
519 cromosoma fue estimada utilizando el software IciMapping (disponible en:
520 <http://www.isbreeding.net/software/>). De esta forma se calcularon las frecuencias de
521 recombinación entre marcadores usando una frecuencia de recombinación (r) igual a 0.3 y
522 un logaritmo de probabilidades en base 10 igual a 3 (LOD), y se estimaron las distancias
523 genéticas a partir de la función de Kosambi (Kosambi, 1943). Por motivos de políticas
524 empresariales del programa de mejoramiento de Syngenta Agro SA, la nomenclatura original
525 de los marcadores ha sido modificada para mantener su confidencialidad

526 Análisis de QTL

527 Las medias fenotípicas ajustadas calculadas anteriormente con los modelos mixtos
528 (BLUP), fueron utilizadas para el mapeo de QTL, en el que se prueba el efecto de una región
529 genómica particular sobre el fenotipo. A su vez, los marcadores moleculares ofrecen
530 información a nivel del ADN para cada genotipo. Para cada uno de los QTL, se calculó el
531 efecto aditivo y el porcentaje de la variancia fenotípica explicada sobre cada atributo. Los
532 QTL fueron identificados por pruebas de asociación entre los polimorfismos en el nivel de
533 ADN con la variación en el nivel fenotípico (Malosetti *et al.* 2008). El método utilizado para el
534 análisis fue el mapeo inclusivo por intervalos compuestos (ICIM, sus siglas en inglés)
535 propuesto por Li *et al.* (2007) usando la opción BIP del software IciMapping. El ICIM usa el
536 siguiente modelo de regresión lineal:

537

$$y_i = b_0 + \sum_{j=1}^{m+1} b_j x_{ij} + e_i \quad [13]$$

538

539 Donde y_i es el valor del carácter del i -ésimo individuo de la población; b_0 es el
540 promedio general del modelo; x_{ij} es una variable *dummy* del genotipo del i -ésimo individuo
541 para el j -ésimo marcador; b_j es el coeficiente de la regresión del fenotipo del j -ésimo

542 marcador condicional sobre todos los otros marcadores y e_i es el error residual del cual se
543 asume que tiene una distribución normal.

544 Cuando se construye el modelo [13], ICIM usa la información de todos los
545 marcadores, seleccionando solo los marcadores más importantes y fija en 0 los que no
546 fueron seleccionados a través del análisis de regresión *stepwise*. Para evitar un sobre
547 ajuste, se utilizó una probabilidad de $p \leq 0.001$ para este último análisis. Así para las
548 posiciones probadas en un intervalo específico (k,k+1) los valores fenotípicos del modelo
549 [13]son ajustados por:

550

$$\Delta y_i = y_i - \sum_{j \neq k, k+1} \hat{b}_j x_{ij} + e_i \quad [14]$$

551

552 Donde \hat{b}_j es el estimador de b_j en el modelo [13]. Los valores fenotípicos fueron
553 ajustados por todos los marcadores retenidos por la ecuación de regresión excepto por los
554 dos marcadores flanqueantes del intervalo en cuestión. El valor fenotípico ajustado (Δy_i)
555 contiene la información de posición y el efecto aditivo del QTL en la posición de prueba
556 evaluada y excluye la influencia de QTL localizados en otro intervalo u otro cromosoma
557 (Wang *et al.* 2012). Los QTL fueron analizados con valor de LOD umbral de 2.5 y un *step*
558 *size* de 2 cM.

559

560 La epítasis di génica de QTL fue estimada usando una regresión lineal desarrollada
 561 por Li *et al.*, (2008) en el software IciMapping:

562

$$y_i = b_0 + \sum_{j=1}^{m+1} b_j x_{ij} + \sum_{j < k} b_{jk} x_{ij} x_{ik} + e_i \quad [15]$$

563

564 Donde y_i es el valor fenotípico del carácter para la i -ésimo individuo de la población;
 565 b_0 es el promedio general; x_{ij} es una variable *dummy* para el genotipo del i -ésimo individuo
 566 para el j -ésimo marcador; b_j es el coeficiente de regresión parcial del fenotipo en el j -ésimo
 567 marcador; b_{jk} es el coeficiente de regresión parcial del fenotipo en la variable de
 568 multiplicación del j -ésimo y k -ésimo marcador; y e_i es el error residual, que se asume de
 569 distribución normal.

570 Una segunda etapa de regresión *stepwise* fue adoptada para la estimación de
 571 parámetros. Primeramente fueron seleccionados los marcadores significativos. Luego una
 572 regresión *stepwise* con una probabilidad de $p \leq 0.0001$ fue aplicada a los residuales del
 573 primer análisis de regresión *stepwise* para seleccionar pares de marcadores significantes y
 574 estimar sus efectos del modelo según Li *et al.* (2008):

575

$$\Delta y_i = y_i - \sum_{r \neq j, j+1, k, k+1} \hat{b}_j x_{ij} - \sum_{\substack{r \neq j, j+1 \\ s \neq k, k+1}} \hat{b}_{rs} x_{ir} x_{is} + e_i \quad [16]$$

576

577 Donde \hat{b}_{rs} son los estimadores de b_r y b_{rs} del modelo [15], respectivamente. Los
 578 valores fenotípicos ajustados Δy_i obtenidos de esta manera contienen la información del QTL
 579 en los dos intervalos de prueba incluyendo las dos posiciones, dos efectos aditivos de los
 580 QTL individuales, y el un efecto epistático entre los dos QTL. Esta es la misma metodología
 581 que la utilizada por Alvarez Prado *et al.* (2013). Para la detección de efectos epistáticos
 582 fueron usados un valor umbral de LOD 5 y un *step size* de 5cM, de esta manera se mejora la
 583 exactitud de detección de los efectos (Zhang *et al.*, 2012).

584 Se determinó que cuando dos o más QTL se encuentran dentro de un intervalo de
585 LOD se consideran co-localizados.

586

587 RESULTADOS

588 Mediciones fenotípicas

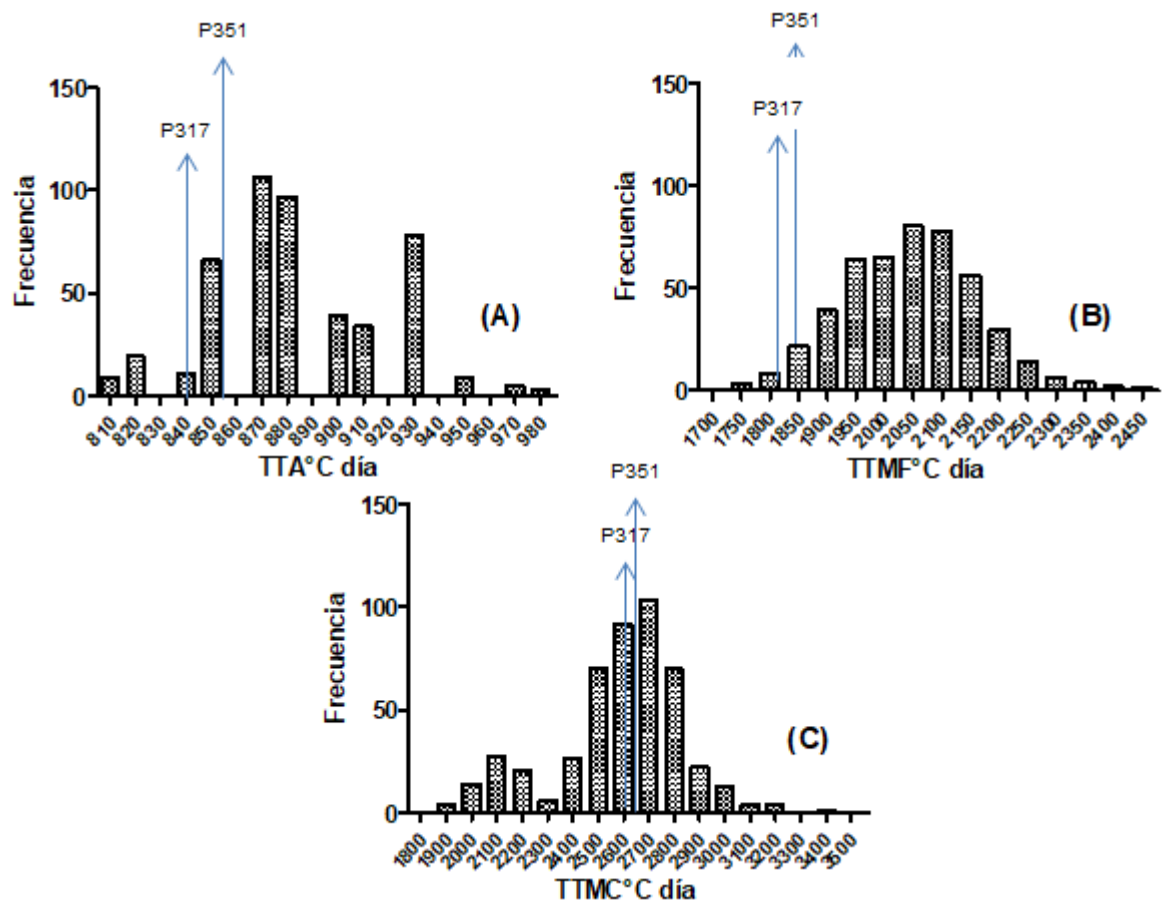
589 *Caracteres Fenológicos*

590 Los genotipos de la población analizada mostraron diferencias significativas para el
591 carácter tiempo térmico a antesis (TTA, $p < 0.001$), explorando un rango de variación desde
592 812 a 979 °C día⁻¹, mientras que los parentales de la población P317 y P351 no fueron
593 significativamente diferentes ($p > 0.05$) para este carácter (Tabla 1, Fig. 1). Para TTA no se
594 pudo analizar la heredabilidad ni las varianzas ya que no hubo variabilidad en los datos
595 debido a un error en su colección.

596 El carácter TTMF tuvo rango de variación de 709 °C día⁻¹ para TTMF (Fig. 1). La
597 media de la población fue mayor que ambos parentales, los cuales no se diferenciaron
598 significativamente ($p > 0.05$) para este carácter pero si hubo diferencias significativas entre los
599 genotipos de la población ($p < 0.001$) (Tabla 1) y el CV de los datos fue del 4%. Los aportes
600 de la variación genotípica y residual fueron similares para este TTMF. La heredabilidad
601 estimada para este carácter fue de 72% (Tabla 1).

602 En cuanto al carácter TTMC, la media de la población fue de 2579 °C día⁻¹, variando
603 entre 1891 y 3435 °C día⁻¹. La media de la población fue menor que los valores explorados
604 por los parentales. No se observaron diferencias significativas entre los parentales, pero si
605 entre los genotipos de la población ($p < 0.001$) y el CV de los datos fue de 4%. En el caso del
606 TTMC la variación fenotípica estuvo mayormente asociada a la varianza residual y la
607 heredabilidad estimada fue de 35% (Tabla 1).

608



609 **Fig. 1.** Histogramas de frecuencia absoluta para TTA (A), TTMF (B) y TTMC (C) para las 173 líneas
 610 doble haploides.

611

612 **Tabla 1.** Tiempo térmico a antesis (TTA), peso de grano (PG), tasa de llenado de granos (TCG), duración del llenado de granos (DLLG), ,máximo
613 contenido de agua en el grano (MCAG), tasa de disecación de grano (TDG), contenido de humedad a madurez fisiológica (CHMF), tiempo térmico
614 desde siembra a madurez fisiológica (TTMF), tasa de secado de granos (TSG), duración del secado de granos (DSG) y tiempo térmico desde siembra
615 a madurez comercial (TTMC) entre líneas parentales (P1 y P2) y medias, mínimos y máximos de las 173 líneas doble haploide. Se detallan los
616 coeficientes de variación y valores de heredabilidad para cada carácter.

	TTA °C día ⁻¹	PG mg grano ⁻¹	TCG mg °C día ⁻¹	DLLG °C día ⁻¹	MCAG mg grano ⁻¹	TDG g Kg ⁻¹ °C día ⁻¹	CHMF %	TTMF °C día ⁻¹	TSG g Kg ⁻¹ °C día ⁻¹	DSG °C día ⁻¹	TTMC °C día ⁻¹
P317	840.00	238.50	0.42	979.00	194.54	0.85	40.32	1819.00	0.33	782.00	2602.07
P351	853.00	288.82	0.48	989.00	199.50	0.75	37.68	1842.00	0.39	818.00	2660.10
Media	883.44***	257.76***	0.30***	1163.89***	184.79***	0.61***	34.00***	2047.31***	0.38***	639.47***	2579.13***
Min	812.00	174.00	0.13	860.00	109.00	0.37	26.15	1727.00	0.10	265.00	1891.00
Max	979.00	379.00	0.54	1524.00	307.00	0.96	52.80	2436.00	0.77	1191.00	3435.00
CV (%)	3.80	14.25	13.19	6.17	18.61	9.90	10.30	4.14	18.48	15.43	4.10
H ² (%)	ND	97.28	75.00	65.49	96.84	57.14	77.14	71.84	59.51	68.65	35.28
% Var. Genética	ND	92.26	50.00	38.75	91.08	30.77	52.94	45.96	32.89	42.20	15.38
% Var. Residual	ND	7.74	50.00	61.25	8.92	69.23	47.06	54.04	67.11	57.80	84.62

617 * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, ND no hay datos calculados.

618

619 *Peso de grano y patrones del crecimiento*

620 Los parentales de la población no evidenciaron diferencias significativas ($p>0.05$)
621 para los caracteres evaluados (PG, TCG, DLLG, MCAG, TDG y CHMF) (Tabla 1).

622 Para PG se observaron diferencias significativas en la población ($p<0.001$) y el
623 rango de variación de este carácter fue de 174 a 379 mg grano⁻¹ y el CV de los datos fue de
624 14%.El valor medio de PG de la población se ubicó entre los dos parentales. El 92% de la
625 variación fenotípica observada estuvo explicada por el efecto genotipo. En cuanto a la
626 heredabilidad estimada de este carácter fue de 97%, la más alta en comparación al resto de
627 los caracteres (Tabla 1).

628 La TCG mostró diferencias estadísticamente significativas para la población
629 ($p<0.001$), y una amplia variación desde 0.13 a 0.53 mg °C día⁻¹. La media de la población
630 fue menor que la de los parentales y el CV de los datos fue del 13%.y la variación fenotípica
631 fue explicada de igual manera por el genotipo y el efecto residual. La heredabilidad estimada
632 para este carácter fue de 75% (Tabla 1).

633 En el caso de la DLLG, se encontraron diferencias estadísticamente significativas
634 entre los genotipos de la población ($p<0.001$). Para este carácter la media de la población
635 fue mayor que la de los parentales. La media de la población fue mayor que los valores de
636 los parentales. La variabilidad observada en la población para la DLLG fue desde 860 a
637 1524 °C día⁻¹ y el CV fue de 6%. La variación fenotípica estuvo explicada mayormente por la
638 variación residual (Tabla 1). La heredabilidad en sentido amplio estimada para esta variable
639 fue de 65% (Tabla 1).

640 En cuanto al MCAG también existieron diferencias significativa entre los individuos
641 de la población ($p<0.001$). Los valores de los parentales y la media de la población fueron
642 similares, y el CV de los datos fue 19%. Por otro lado, el rango explorado por los genotipos
643 de la población fue desde 109 a 307 mg grano⁻¹. El 91% de esta variación fenotípica estuvo
644 explicada por el genotipo y heredabilidad estimada fue la segunda más alta detrás del PG
645 (Tabla 1).

646 La media de la población para TDG fue menor que la de los parentales (Tabla 1). Se
647 encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los individuos de la población
648 ($p<0.001$) y el rango de variación fue desde 0.37 a 0.96 g kg⁻¹ °C día⁻¹ con un CV de 10%.
649 Los valores explorados por los parentales fue mayor a la media de la población. El 69% de

650 la variación fenotípica fue explicada por la variancia residual. La heredabilidad estimada fue
651 intermedia respecto a los demás caracteres (57%, Tabla 1).

652 Por último, para este grupo de variables pertenecientes a la etapa entre antesis y
653 madurez fisiológica, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los
654 genotipos de la población ($p < 0.001$) para el CHMF y su rango de variabilidad fue desde 26%
655 a 52%. La media de la población fue menor a los valores de los parentales y el CV de los
656 datos fue 10%. La variación fenotípica explicada fue aproximadamente de igual manera por
657 las varianza genotípica y la residual. La heredabilidad estimada fue de 77% (Tabla 1).

658 *Tasa y duración del secado de granos*

659 Los parentales no difirieron significativamente para la TCG mientras que dentro de la
660 población existieron diferencias significativas ($p < 0.001$). El rango explorado de valores fue
661 desde 0.1 a 0.77 g kg⁻¹ °C día⁻¹. La media de la población fue similar a los valores de los
662 parentales, y el CV de los datos fue de 18%. El 67% de la variación fenotípica estuvo
663 explicada por la variancia residual. La heredabilidad estimada para este carácter fue
664 intermedia comparando con las demás variables (Tabla 1).

665 Por último, para la DSG no se observaron diferencias significativas entre los
666 parentales ($p > 0.05$), la tendencia fue hacia una menor duración de esta etapa para el P317.
667 En cuanto a la población de estudio, se observaron diferencias significativas ($p < 0.001$) para
668 esta variables y el rango de variación fue desde 265 a 1191 °C día⁻¹. La media de la
669 población fue menor a la de los parentales y los datos tuvieron un CV del 15%. El 58% de la
670 variación fenotípica de la DSG estuvo explicada la variancia residual. La heredabilidad
671 estimada para este carácter fue 69% (Tabla 1).

672

673 *Correlación entre caracteres*

674 Los resultados del análisis de correlación se presentan en la Tabla 2. El TTA no
675 estuvo correlacionado con la DLLG ($p>0.05$), es decir, que estas dos variables de duración
676 de etapas son independientes, por lo que los genotipos con similar TTA pueden tener
677 distintas DLLG y genotipos con DLLG similares pueden tener una amplia variación en el
678 TTA. También el TTA estuvo en menor medida, positivamente correlacionado con el PG y el
679 MCAG ($p<0.05$) (0.19 y 0.21, respectivamente) y no así con la tasa de crecimiento de granos
680 (TCG) ($p>0.05$). Por otro lado, el TTA estuvo correlacionado negativamente (-0.18), pero
681 significativamente ($p<0.05$), con un solo carácter de la etapa desde madurez fisiológica a
682 cosecha, que es la DSG. La relación entre el TTA y el TTMC fue muy baja y no significativa
683 ($p>0.05$).

684 El PG estuvo positivamente correlacionado con la TCG ($p<0.001$) (Tabla 2), aquellos
685 genotipos con alta TCG mostraron alto PG. El PG también estuvo significativa y
686 positivamente correlacionado con la DLLG ($p<0.001$) (Tabla 2), aquellos genotipos con largo
687 DLLG mostraron mayor PG (Fig. 2). También la TCG y PG estuvieron significativa (Tabla 2)
688 y positivamente correlacionados con el MCAG ($p<0.001$) (Tabla 2). Así mismo, el PG estuvo
689 significativa y positivamente correlacionado con el TTMF ($p<0.001$) (Tabla 2), donde
690 aquellos genotipos con mayor PG exploraron un mayor TTMF.

691 La TCG mostró una significativa correlación negativa con la DLLG (-0.35) ($p<0.001$),
692 genotipos con mayor TCG tuvieron DLLG más cortas (Tabla 2).

693 La DLLG depende de cuán rápido cada genotipo alcanza el CHMF específica,
694 mediante la TDG. El DLLG estuvo significativa ($p<0.001$) y negativamente correlacionada
695 con la TDG (-0.59), es decir, genotipos con mayor TDG alcanzaron MF en menor tiempo
696 térmico (Tabla 2). Consecuentemente, la TDG estuvo significativamente ($p<0.001$) y
697 negativamente correlacionada al carácter TTMF (Tabla 2).

698

699 **Tabla 2.** Matriz de correlaciones (Pearson) entre los caracteres Tabla 1. Tiempo térmico a antesis (TTA), peso de grano (PG), tasa de llenado de
700 granos (TCG), duración del llenado de granos (DLLG), máximo contenido de agua en el grano (MCAG), tasa de disecación de grano (TDG), contenido
701 de humedad a madurez fisiológica (CHMF), tiempo térmico desde siembra a madurez fisiológica (TTMF), tasa de secado de granos (TSG), duración
702 del secado de granos (DSG) y tiempo térmico desde siembra a madurez comercial (TTMC), para las 173 líneas DH.

703

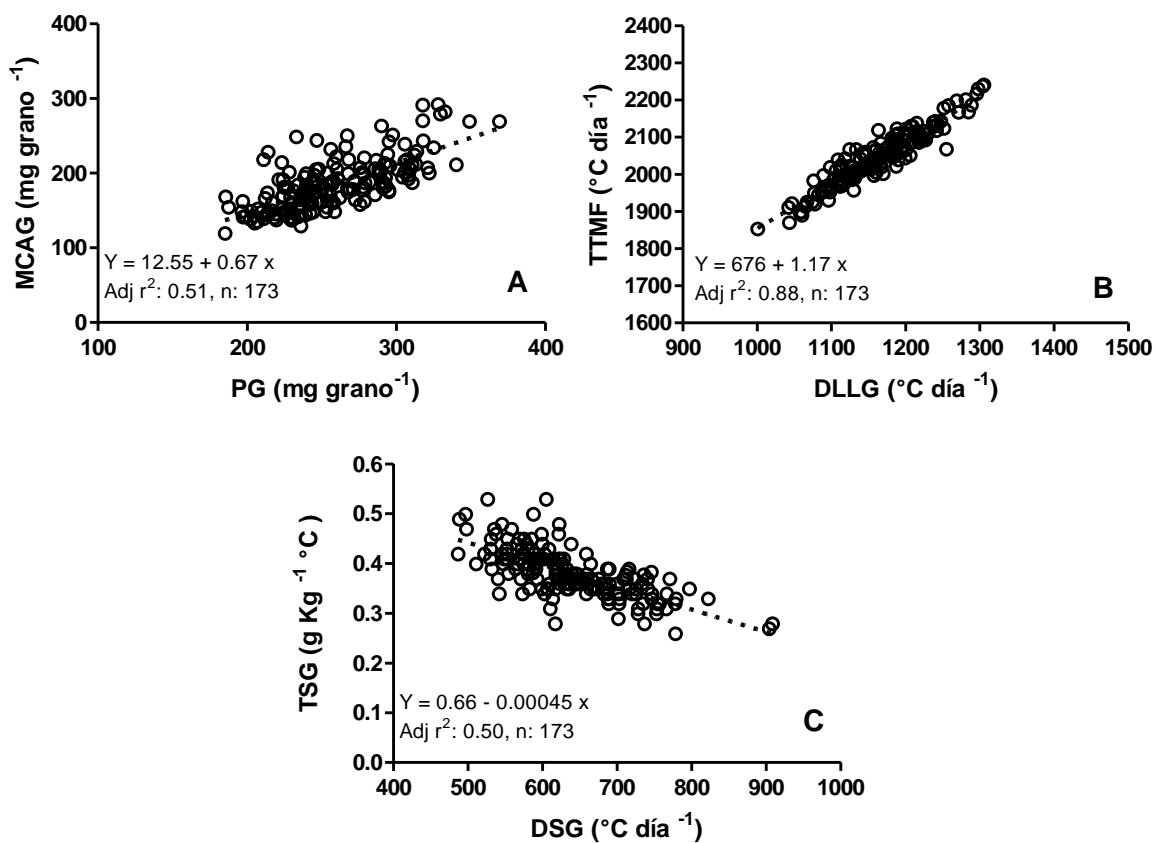
	TTA	PG	TCG	DLLG	TDG	MCAG	TTMF	CHMF	TSG	DSG
PG	0.19*									
TCG	0.03	0.57***								
DLLG	0.15	0.45***	-0.35***							
TDG	-0.16*	-0.27***	0.47***	-0.59***						
MCAG	0.21*	0.72***	0.53***	0.18*	-0.20*					
TTMF	0.46***	0.47***	-0.30***	0.95***	-0.58***	0.23**				
CHMF	-0.01	-0.18*	0.23**	-0.45***	-0.02	0.43***	-0.41***			
TSG	0.03	-0.12	0.08	-0.20*	0.12	0.21*	-0.17*	0.31***		
DSG	-0.18*	-0.01	0.18*	-0.15	0.16*	-0.15	-0.19*	-0.01	-0.72***	
TTMC	-0.04	0.10	0.06	0.11*	-0.02	-0.04	0.08	-0.09	-0.33***	0.50***

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

704 La DLLG se correlacionó significativa y negativamente con el CHMF ($p < 0.001$) (Tabla
705 2). Genotipos con un menor DLLG mostraron mayor CHMF. La DLLG tuvo una altísima
706 correlación positiva con el TTMF ($p < 0.001$ y $r: 0.95$) (Tabla 2), evidenciando que los
707 genotipos con mayor DLLG tardaron más en alcanzar su madurez fisiológica (Fig. 2b). El
708 MCAG estuvo correlacionado significativamente y positivamente con el CHMF ($p < 0.001$)
709 mostrando que aquellos genotipos que exploran valores más altos en MCAG alcanzaron MF
710 con un porcentaje de humedad mayor. La relación entre la DLLG y DSG, no fue
711 estadísticamente significativa ($p > 0.05$). Este resultado muestra la independencia entre la
712 duración de la etapa floración a madurez fisiológica, y la etapa madurez fisiológica a
713 madurez comercial.

714 El CHMF estuvo negativamente correlacionado con el TTMF ($p < 0.001$), es decir, que
715 aquellos genotipos que tuvieron un mayor TTMF tuvieron un menor CHMF (Tabla 2).

716 La TSG tuvo una correlación positiva (0.31) y significativa con el CHMF, indicando
717 que aquellos genotipos con mayor CHMF exploraron mayores TSG (Tabla 2). Así mismo, la
718 TSG mostró una significativa y negativa correlación con la DSG ($p < 0.001$) (Tabla 2),
719 mostrando que los genotipos con mayor DSG tuvieron menor TSG (Fig. 2). La TSG mostró
720 una correlación negativa (-0.33) pero muy significativa ($p < 0.001$) con el TTMC (Tabla 2). Y
721 este carácter evidenció una positiva correlación con la DSG ($p < 0.001$) (Tabla 2). Además, no
722 existió una correlación fuertemente positiva entre los caracteres relacionados con la
723 duración del llenado y los del secado de granos. Analizando la variable TTMC, que en este
724 estudio es considerada como el ciclo total del cultivo de maíz, no existió correlación con el
725 TTA, solo una baja correlación (0.11) estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con la DLLG y
726 una alta correlación (0.50) significativa ($p < 0.001$) con la DSG.



727
728

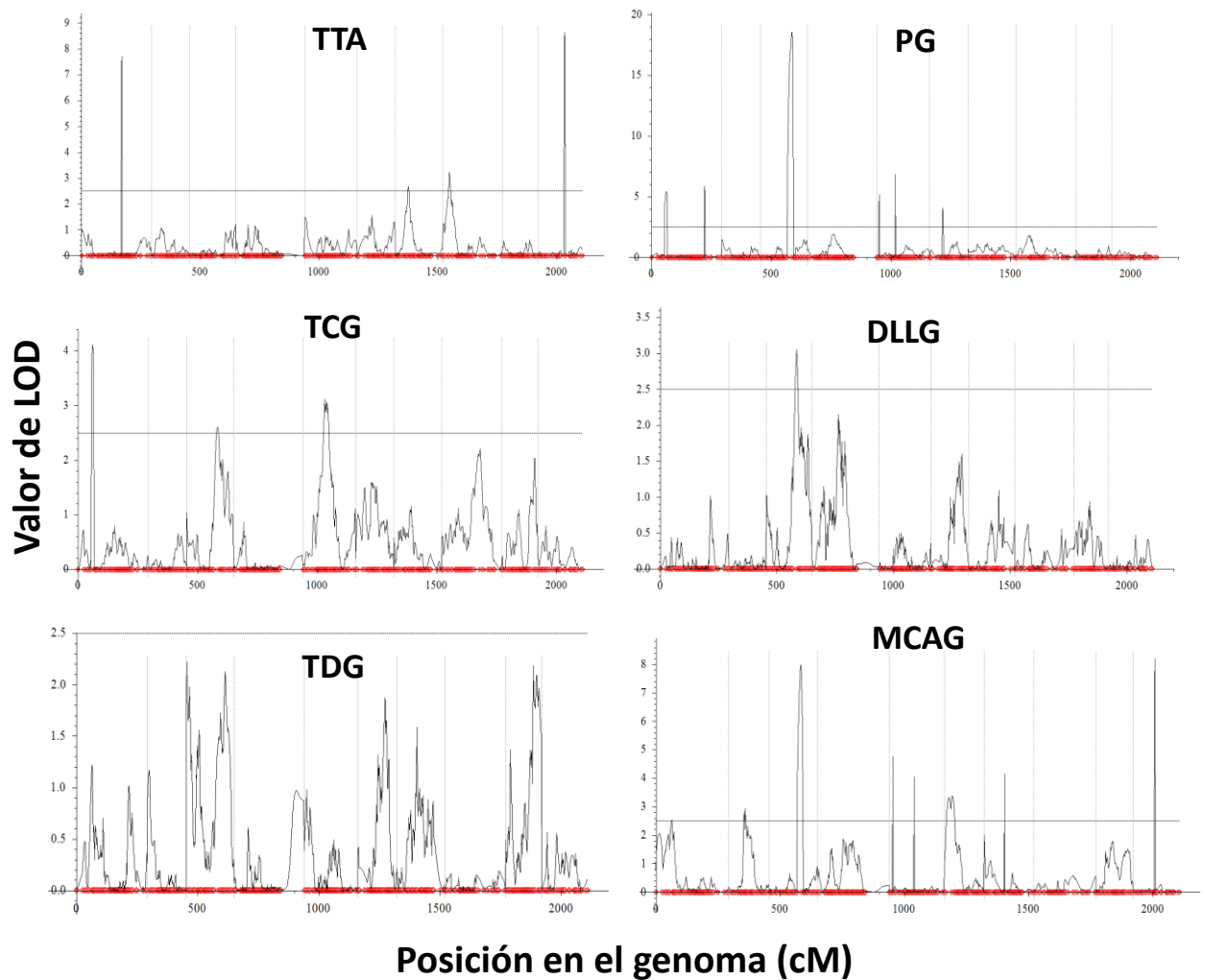
729 **Fig. 2.** Relaciones entre los mejores predictores lineales insecgados (BLUP) de PG y MCAG (A),
730 DLLG y TTMF (B), DSG y TSG (C). Se muestran las medias de las 173 líneas doble haploide
731 analizadas.

732

733 **Mapeo de QTL**

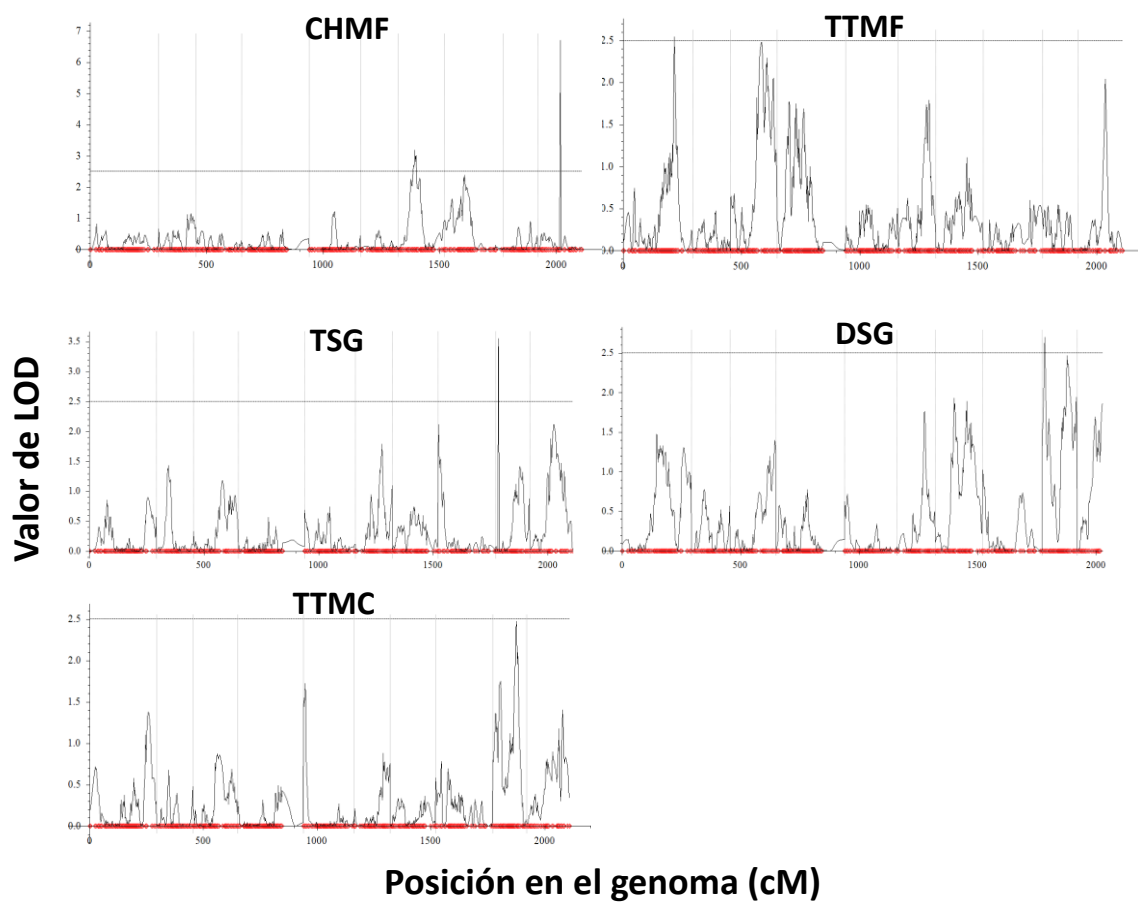
734 El largo total del mapa genético fue de 2109 cM, con una densidad promedio de un
735 marcador cada 1.83 cM Del total de individuos de la población de mapeo, solo 169 fueron
736 incluidos en el análisis de QTL, ya que las cuatro líneas faltantes fueron descartadas por
737 falta de datos fenotípicos. Se identificaron 29 QTL localizados a lo largo de los diez
738 cromosomas, usando el procedimiento multi-carácter. En la Tabla 3 se presentan los QTL
739 detectados que fueron estadísticamente significativos considerados como tales ya que,
740 mostraron valores de LOD iguales o mayores a 2.5 fueron: TTA, PG, TCG, DLLG, MCAG,
741 CHMF, TTMF, TSG y DSG, (Fig. 3 a y b). No se detectaron interacciones epistáticas que
742 fueran significativas para nuestro modelo de QTL.

743 ..



744

745 **Fig. 3a. Mapeo de QTL**, para los caracteres tiempo térmico a antesis (TTA), peso de grano (PG), tasa
 746 de llenado de granos (TCG), duración del llenado de granos (DLLG), máximo contenido de agua en el
 747 grano (MCAG), tasa de disecación de grano (TDG), Líneas negras representan el logaritmo en base
 748 10 de probabilidades (LOD). Las líneas sobre el eje Y, representan el umbral de 2.5 de valor de LOD);
 749 para 169 individuos de la población de DH.



750

751

752

753

754

755

Fig. 3b. Mapeo de QTL, para los caracteres contenido de humedad a madurez fisiológica (CHMF), tiempo térmico desde siembra a madurez fisiológica (TTMF), tasa de secado de granos (TSG), duración del secado de granos (DSG) y tiempo térmico desde siembra a madurez comercial (TTMC). Líneas negras representan el logaritmo en base 10 de probabilidades (LOD). Las líneas sobre el eje Y, representan el umbral de 2.5 de valor de LOD); para 169 individuos de la población de DH.

756 Los efectos aditivos que se visualizan en la Tabla 3, corresponden al P351, mientras
757 que los efectos de los alelos de P317 mostrarían el valor opuesto. En la Fig. 4 se observan
758 las posiciones de los QTL en los cromosomas

759 Se encontraron cuatro QTL para el TTA y la variación fenotípica explicada fue 44%,
760 respecto a su localización los QTL identificados se ubicaron en cromosomas (1, 7, 8 y 10) y
761 no cercanos a otros QTL (Tabla 3).

762 Dentro del grupo de los caracteres relacionados con la etapa de llenado de granos,
763 se encontraron seis QTL para PG con una variación fenotípica de 56%, y los QTL se
764 ubicaron en cuatro grupos de ligamiento (1, 3, 5 y 6) (Tabla 3). Tres QTL se hallaron para la
765 TCG, explicando el 25% de la variación fenotípica y los QTL se ubicaron en 3 cromosomas
766 (1, 3 y 5) (Tabla 3). Solo un QTL se detectó para DLLG, la variación fenotípica explicada fue
767 de 8% y el QTL se ubicó en el grupo de ligamiento 3. Para el carácter MCAG se encontraron
768 ocho QTL, la variación fenotípica explicada fue de 57%, y se ubicaron en 6 cromosomas (1,
769 2, 3, 5, 6, 7 y 10) (Tabla 3). Para el TTMF se encontraron. Tres QTL, la variación fenotípica
770 explicada fue 19% y los QTL se hallaron en los grupos de ligamiento 1, 3 y 4 (Tabla 3). Dos
771 QTL fueron encontrados para el CHMF, la variación fenotípica explicada fue de 24% y los
772 QTL se localizaron en los cromosomas 7 y 10 (Tabla 3).

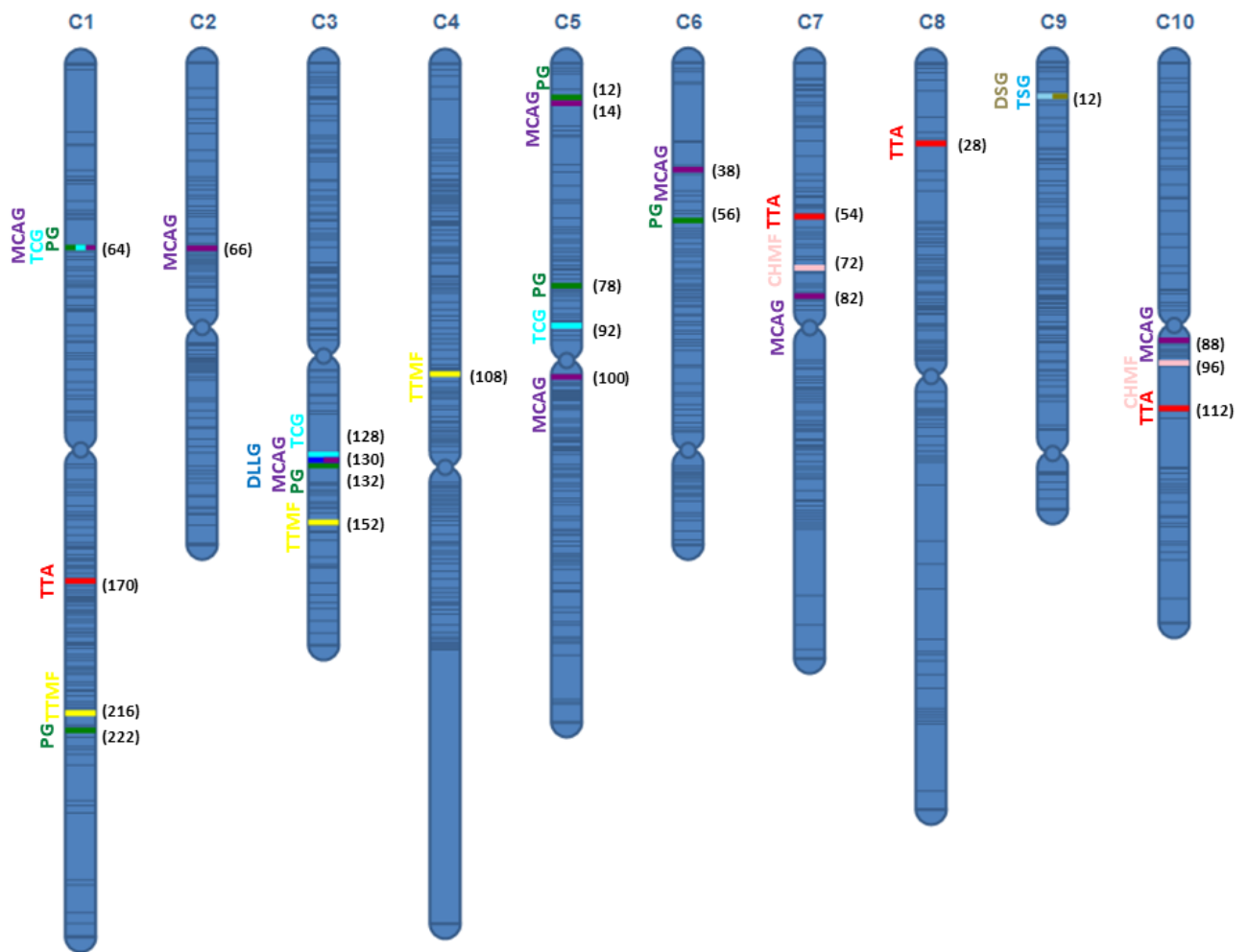
773 Diversas ubicaciones similares de QTL fueron detectadas para caracteres
774 relacionados con la etapa desde antesis hasta madurez fisiológica. La co-localización de
775 QTL se determinó mediante un intervalo de LOD, es decir que si ambos QTL se encuentran
776 en ese intervalo se consideran co-localizados. Tres QTL fueron identificados para los
777 caracteres PG, TCG y MCAG ubicados en la misma posición (64 cM) del cromosoma 1 (Fig.
778 4). Estos mismos caracteres (PG, TCG y MCAG) se localizaron junto a un QTL para DLLG
779 entre las posiciones 128 y 132 cM del grupo de ligamiento 3 (Fig. 4). También los caracteres
780 PG y TTMF se encontraron próximos en otra región del cromosoma 1 (222 y 216 cM,
781 respectivamente) (Fig. 4). El PG y MCAG, se co-localizaron en una región del cromosoma 5,
782 posiciones 12 y 14 cM.

783 Para los caracteres relacionados con la definición de la humedad de los granos a
784 cosecha se encontró un QTL para TSG, con una variación fenotípica de 9%. Respecto a la
785 DSG se halló un QTL y la variación fenotípica explicada fue de 7%. Ambos QTL identificados
786 para la TSG y DSG se co-localizaron en la posición 12 cM del cromosoma 9 (Fig. 4).

787 **Tabla 3.** QTL detectados para los caracteres del modelo ecofisiológico: tiempo térmico a
788 antesis (TTA), peso de grano (PG), tasa de llenado de granos (TCG), duración del llenado
789 de granos (DLLG), máximo contenido de agua en el grano (MCAG), contenido de humedad
790 a madurez fisiológica (CHMF), tiempo térmico desde siembra a madurez fisiológica
791 (TTMF), tasa de secado de granos (TSG) y duración del secado de granos (DSG); para
792 169 individuos de la población de DH.

Carácter	Cromosoma ^b	Posición ^c (cM)	Marcador Izquierdo	Marcador Derecho	LOD ^e	VFE (%) ^a	Efecto Aditivo ^d
TTA	1	170	C1MM114	C1MM115	7.50	12.50	-12.09
	7	54	C7MM1507	C7MM1504	3.25	5.12	7.56
	8	28	C8MM1748	C8MM1747	3.59	5.66	7.94
	10	112	C10MM2034	C10MM2033	11.82	21.30	-15.88
PG	1	64	C1MM235	C1MM234	5.42	6.35	10.13
	1	222	C1MM22	C1MM20	5.86	6.51	-10.78
	3	132	C3MM560	C3MM559	18.56	25.63	21.38
	5	12	C5MM1229	C5MM1228	5.17	5.75	-9.62
	5	78	C5MM1178	C5MM1174	6.80	7.67	-11.05
	6	56	C6MM1373	C6MM1369	4.05	4.39	8.43
TCG	1	64	C1MM235	C1MM234	5.16	11.27	0.01
	3	128	C3MM562	C3MM560	3.00	6.29	0.01
	5	92	C5MM1158	C5MM1159	3.49	7.17	-0.01
DLLG	3	130	C3MM560	C3MM559	3.05	7.86	16.79
MCAG	1	64	C1MM235	C1MM234	2.85	3.50	5.84
	2	66	C2MM461	C2MM450	3.57	4.09	-6.25
	3	130	C3MM560	C3MM559	9.97	13.05	11.74
	5	14	C5MM1227	C5MM1225	6.76	8.09	-8.91
	5	100	C5MM1150	C5MM1145	6.09	7.26	-8.33
	6	38	C6MM1381	C6MM1380	4.26	5.15	7.02
	7	82	C7MM1482	C7MM1480	5.13	6.00	7.94
	10	88	C10MM2065	C10MM2064	7.79	9.45	-9.50
TTMF	1	216	C1MM27	C1MM25	4.04	7.87	-22.56
	3	152	C3MM544	C3MM539	3.26	6.26	19.52
	4	108	C4MM847	C4MM846	2.53	5.08	-17.51
CHMF	7	72	C7MM1494	C7MM1492	3.18	6.90	0.82
	10	96	C10MM2040	C10MM2036	7.37	16.95	-1.24
TSG	9	12	C9MM1955	C9MM1954	3.55	9.17	-0.01
DSG	9	12	C9MM1955	C9MM1954	2.70	7.05	20.37

793 ^aPorcentaje de la variación fenotípica explicado por el modelo genético. ^bNúmero de cromosoma.
794 ^cPosición del QTL en el cromosoma. ^dEfecto aditivo del alelo parental P351. ^eLOD Score: Logaritmo
795 en base 10 de la razón de funciones de verosimilitud.



796

797

798

799

800

801

802

803

804

Fig 4. Localización cromosómica en cM entre paréntesis de los QTL detectados de los caracteres del modelo ecofisiológico: tiempo térmico a antesis (TTA), peso de grano (PG), tasa de llenado de granos (TCG), duración del llenado de granos (DLLG), máximo contenido de agua en el grano (MCAG), tasa de disecación de grano (TDG), contenido de humedad a madurez fisiológica (CHMF), tiempo térmico desde siembra a madurez fisiológica (TTMF), tasa de secado de granos (TSG), duración del secado de granos (DSG) y tiempo térmico desde siembra a madurez comercial (TTMC); para 169 individuos de la población de DH.

DISCUSIÓN

805

806 En el presente trabajo se plantea el estudio de un modelo ecofisiológico que brinde
807 información genética y fenotípica para definir una estrategia de mejoramiento con el objetivo
808 de lograr genotipos que en un ambiente particular logren alcanzar la cosecha con un menor
809 contenido de humedad sin reducir su potencial de rendimiento. El modelo ecofisiológico
810 planteado consta de diseccionar en caracteres simples dos caracteres complejos como son
811 la determinación PG y la HG. La descomposición de caracteres complejos en muchas
812 especies como método de investigación se ha basado principalmente en dos enfoques, el
813 análisis de ligamiento con poblaciones biparentales y análisis de desequilibrio de ligamiento
814 con paneles de asociación. La relevancia de este estudio es enlazar los mecanismos
815 fisiológicos de generación de rendimiento del cultivo con los genéticos, analizando una
816 población de mapeo biparental de dobles haploides, y así proveer información para
817 corroborar las hipótesis postuladas sobre la arquitectura genética de estos caracteres en
818 distintos *backgrounds* genéticos y ambientes.

819 Los parentales de la población de estudio fueron seleccionados en base a ser
820 discrepantes en la duración del ciclo desde siembra a cosecha. Estos parentales fueron
821 fenotipados durante varios ciclos de crecimiento y atravesando una serie de testeos varios
822 para ser seleccionados para la conformación de una población de mapeo de QTL de dobles
823 haploides del programa de mejoramiento de Syngenta Argentina. A pesar de la evidencia de
824 su diferenciación en ciclo en el presente estudio no reflejaron esas discrepancias, y se
825 comportaron muy similarmente para la mayoría de los caracteres evaluados. En una
826 población de mapeo de dobles haploides se espera que exista menor variabilidad por la
827 cantidad de eventos de *crossing over* comparado con población de RILs. Sin embargo, la
828 población estudiada sí mostró diferencias fenotípicas grandes para los valores de los
829 caracteres evaluados, que permitió detectar QTL para los mismos.

830 Los resultados examinados en este estudio presentaron un amplio rango de
831 variabilidad para los patrones de crecimiento y la etapa de secado de los granos de maíz.
832 Las líneas doble haploide difirieron en el PG, la TCG, la DLLG, el MCAG, la TDG, el CHMF,
833 la TSG, la DSGy el TTA, TTMF y TTMC. Por lo tanto se corrobora la hipótesis planteado
834 para la existencia de variabilidad fenotípica de los caracteres estudiados.

835 El TTA no se correlaciona con la DLLG, por lo tanto genotipos con TTA similares
836 pueden tener DLLG muy disimiles. Resultados similares fueron también reportados por
837 Borrás *et al.* (2009) y Alvarez Prado *et al.* (2014), quienes trabajaron con *backgrounds*

838 genéticos muy amplios y diferentes al que se utiliza aquí, así también con diversidad de
839 ambientes. Respecto a la relación entre TTA y DSG si existe una relación y es negativa, es
840 decir que cuanto mayor es el TTA menor será la DSG. Estos resultados simplificarían la
841 estrategia de mejoramiento para lograr genotipos que tenga menor humedad de grano a
842 cosecha sin reducir el rendimiento potencial ya que se podría seleccionar a favor de DSG
843 más cortas sin alterar la DLLG o reducir el TTA que está relacionado positivamente con el
844 rendimiento (Capristo *et al.*, 2007).

845 Las correlaciones entre los caracteres PG, TCG, TDG y MCAG fueron similares a las
846 encontradas en reportes previos por Borrás *et al.* (2009) y Alvarez Prado *et al.* (2014). Estas
847 consistencias sustentan la hipótesis del aporte de estos caracteres a la determinación de
848 una variable de gran complejidad como es el PG, y también corrobora la replicación del
849 método de fenotipado usado en los estudios mencionados. Estas relaciones evidencian una
850 fuerte relación genética entre estas variables. Respecto a los caracteres relacionados con la
851 etapa de pérdida de humedad de los granos, la TSG y la DSG se correlacionan
852 negativamente, de manera similar a lo que ocurre entre la TCG y la DLLG durante la
853 determinación del PG. Es evidente que existe poca relación entre la primer y segunda
854 etapas definidas en 'este estudio, ya que no existe una correlación significativa entre la
855 DLLG y la DSG. Sin embargo existe un punto de contacto entre ambas etapas que resulta
856 interesante y es la relación entre el CHMF y la TSG, que sugiere que a medida que CHMF
857 es mayor la TSG también lo es. Esta correlación significativa podría indicar que existe un
858 control parcial sobre la TSG por parte de una variable fisiológica y no solamente por
859 variables asociadas mayormente a las condiciones climáticas como la temperatura y la
860 humedad relativa del aire (Schmidt y Hallauer, 1966). Y rasgos morfo-fisiológicos del cultivo
861 que ejercen influencia sobre la TSG a campo (Troyer y Ambrose, 1971). Por lo tanto, se
862 puede corroborar la hipótesis de que existe una relación entre caracteres de la etapa de
863 llegando de granos y la etapa de secado. Además esta relación entre el CHMF y la TSG, es
864 de alta utilidad al momento de establecer una estrategia de mejoramiento para alcanzar más
865 rápido la el contenido de humedad comercial ya que seleccionado genotipos con mayor
866 CHMF se estaría seleccionado indirectamente TCG más rápidas. Este tipo de selección no
867 requeriría un fenotipo extremadamente complejo. A su vez, las variables estudiadas
868 sugieren que el TTMC, (considerado en este estudio como el ciclo total del cultivo) está muy
869 relacionado a las variable de las segunda etapa entre MF y madurez de cosecha y no así, a
870 la primer etapa desde TTA a la MF.

871 Los valores de heredabilidad que evidenciaron los caracteres: PG, TCG, DLLG,
872 MCAG, TDG y CHMF, están en concordancia con Alvarez Prado *et al.* (2013 y 2014). La
873 TSG mostró una menor heredabilidad cuando se la compara a la reportada en el trabajo de
874 Sala *et al.* (2006) (0.59 y 0.79, respectivamente), pero los métodos de determinación del
875 carácter fueron algo distintos. En esta tesis se estimó en base al peso fresco y seco de los
876 granos, y en el trabajo de Sala *et al.* (2006) fue mediante métodos indirectos, con una curva
877 ajustada sobre valor de humedad medido directamente sobre los granos en la planta, con un
878 aparato de medición in situ. Estas evidencias de similitud con otros trabajos realizados en
879 *backgrounds* genéticos y ambientes muy diversos dan consistencia a los resultados hallados
880 en el presente trabajo.

881 La ubicación de los 998 marcadores en conjunto con la variabilidad mostrada por la
882 población lograron una buena saturación del genoma, que permitió lograr el objetivo de
883 detección de QTL ligados a los caracteres estudiados. De esta manera se corrobora la
884 hipótesis de la posibilidad de encontrar QTL para las variables del modelo ecofisiológico
885 planteado.

886 Los QTL significativos detectados en la población bajo estudio sugiere que la
887 arquitectura genética de la determinación del peso de grano, es dominada por QTL de efecto
888 aditivo pequeños a medianos, resultados similares se observaron en Alvarez Prado *et al.*
889 (2013 y 2014). En el presente trabajo no se evidenciaron interacciones epistáticas para los
890 caracteres analizados, pero sí en Alvarez Prado *et al.* (2014). y en Sala *et al.* (2006) quienes
891 encontraron este tipo de interacciones significativas en ambas etapas analizadas en el
892 presente trabajo. Estas interacciones entre marcadores pueden tener implicancias en la
893 arquitectura genética de caracteres más complejos como ser la definición del PG o la TSG
894 (Hollan *et al.*, 1997). Este tipo de interacciones se deben a la gran asociación de varios
895 genes involucrados, por ejemplo en el llenado de granos. Liu *et al.* (2008), describió 3445
896 genes expresados asociados con procesos tales como la división, el crecimiento y la
897 diferenciación celular, la síntesis de almidón, de proteínas de reserva, ácidos grasos y
898 fitohormonas, todas estas vías fueron señalizadas durante el período de llenado de granos.
899 Por lo tanto en esta tesis en la población estudiada no se pudo corroborar la hipótesis de
900 existencia de interacciones epistáticas entre los caracteres analizados.

901 La ubicación conjunta de QTL para PG, DLLG, TCG, MCAG, CHMF, TSG y DSG,
902 ayudan a explicar las correlaciones fenotípicas observadas en este estudio (Swank *et al.*,
903 1987; Calderini *et al.*, 2000; Borrás y Westgate, 2006) También se puede decir que los

904 caracteres correlacionados fenotípicamente son independientes del trasfondo genético, en
905 coincidencia con los resultados reportados por Alvarez Prado *et al.* (2013 y 2014), y Sala *et*
906 *al.* (2006). Los resultados aquí presentados confirman la hipótesis sobre existencia de
907 regiones cromosómicas comunes para caracteres correlacionados fenotípicamente. Sala *et*
908 *al.* (2006) encontró la ubicación conjunta de QTL para las TSG y el porcentaje de humedad a
909 cosecha, si bien en el presente trabajo no se analizó el porcentaje de humedad a cosecha,
910 este y la DSG son caracteres muy correlacionados con la TSG. En ambos estudios se
911 encontró un QTL para la TSG, y este estuvo localizado conjuntamente con un carácter
912 relacionado fisiológicamente.

913 En este estudio se encontraron QTL para los caracteres relacionados con el PG
914 ubicados en los mismos grupos de ligamiento 1, 3, 4, 5 y 7, que reportó Alvarez Prado *et al.*
915 (2014). En el citado trabajo el análisis se llevó a cabo sobre una población multiparental
916 desarrollada en base al concepto de población de mapeo por asociación anidada de maíz,
917 que combina un amplio rango de diversidad genética con recombinación ancestral
918 permitiendo tener suficiente poder para analizar la arquitectura genética de caracteres
919 complejos como el PG (Yu *et al.*, 2008; Buckler *et al.*, 2009; Peiffer *et al.*, 2013). Este tipo de
920 población ha sido creada para combinar los objetivos de estudios sobre poblaciones de
921 mapeo biparentales y el desequilibrio de ligamiento de paneles de asociación. La
922 consistencia de QTL detectados en los mismos grupos de ligamiento en distintos
923 *backgrounds* genéticos y condiciones ambientales surgieron que uno o más genes de
924 importancia para estos caracteres pueden estar localizados en estos cromosomas. Se halló
925 una novedosa región en el cromosoma tres entre las posiciones 128 y 132, asociada al PG,
926 TCG, DLLG y MCAG, anteriormente no se había observado una región con significancia
927 para estos cuatro caracteres. A su vez Sala *et al.* (2006) demostró en una población
928 segregante de maíz F_{2:3} que la TSG esta altamente influenciada por el *background* genético.
929 Es decir, no hubo consistencia en el presente trabajo con la investigación de Sala *et al.*
930 (2006) ya que no se encontró el mismo número de QTL y las localizaciones fueron en
931 cromosomas distintos. Por lo tanto la hipótesis sobre la coincidencia de QTL encontrados
932 para la población y ambiente bajo estudio con los encontrados en otras poblaciones y
933 ambientes o son consistentes con los QTL encontrados en otras investigaciones no puede
934 confirmarse completamente ya que si hubo coincidencia para los caracteres relacionados
935 con la definición del PG pero no así con la etapa de secado de granos.

936 Por último, y relacionando las hipótesis que se testearon en la presente tesis con los
937 resultados descriptos, la primera (existe variabilidad fenotípica para los caracteres

938 estudiados) fue aceptada. La segunda (existe independencia entre la etapa entre siembra y
939 antes antesis con las etapas de llenado de granos y secado de los mismos) también fue
940 aceptada. La tercera (existe una relación entre los caracteres relacionados con la
941 determinación del peso de grano y aquellos que definen la humedad a cosecha) fue
942 aceptada. La cuarta (es posible detectar QTL para los caracteres estudiados) fue aceptada.
943 La quinta (existen interacciones epistáticas entre los caracteres que definen el peso final de
944 los granos y la duración del secado) no fue aceptada, ya que no encontramos efectos
945 epistáticos. La sexta (existen regiones cromosómicas comunes para caracteres relacionados
946 fisiológicamente) fue aceptada. Y por último, la séptima (los QTL encontrados para la
947 población y ambiente bajo estudio coinciden con los encontrados en otras poblaciones y
948 ambientes o son consistentes con los QTL encontrados en otras investigaciones) fue
949 aceptada parcialmente, ya que varias localizaciones han sido únicas para este estudio.

950

951

CONCLUSIONES

952

953

954

955

Los resultados obtenidos en esta tesis permiten incrementar el conocimiento sobre las bases genéticas de la maduración de los granos de maíz a través del análisis fenotípico y la identificación de QTL de caracteres asociados a la determinación de rasgos complejos de las etapas de llenado de granos y de secado de granos

956

957

958

.La metodología de fenotipado fue de gran precisión, lo que permitió capturar la variabilidad fenotípica presente en la población de dobles haploides, y así demostrar la validez del modelo ecofisiológico utilizado para el análisis.

959

960

961

962

963

964

965

Se encontró una relación entre caracteres fisiológicos muy interesante que podría definir una estrategia de mejoramiento para lograr genotipos que sequen más rápido sus granos sin resignar rendimiento. Esta relación específica, fue entre el CHMF y la TSG. Sugiriendo que genotipos con mayor CHMF tendrían una mayor TSG. Por lo tanto, se podría seleccionar genotipos con alta TCG y una DLLG no tan extensa que garanticen un PG promedio para un híbrido de maíz, pero con alto CHMF que podría desencadenar en una TSG más rápida y así acortar el tiempo desde la fecundación de los óvulos a la cosecha.

966

967

968

969

970

971

972

973

974

975

976

Se detectaron QTL que unieron las correlaciones fenotípicas de caracteres fisiológicos con su ubicación común en el genoma de maíz. Los resultados del análisis de QTL para los caracteres de la etapa de llenado de granos fueron consistentes con los hallados anteriormente en la bibliografía, en ambientes y trasfondos genéticos distintos. La estrategia de la utilización de QTL para la selección de genotipos con atributos deseados, como pueden ser un PG promedio (entendido como promedio de los PG de híbridos comerciales) pero con DLLG y DSG cortas, son de gran utilidad en un programa comercial, si bien el fenotipado de estos caracteres puede ser costoso, los resultados de esta tesis y los antecedentes demuestran su utilidad. Los efectos aditivos para algunos QTL encontrados, como el PG, la DLLG, el TTMF y la DSG son de alta importancia para incluirlos en el programa de selección recurrente asistida por marcadores de Syngenta.

977

978

979

Se halló una novedosa región en el cromosoma tres entre las posiciones 128 y 132, asociada al PG, TCG, DLLG y MCAG. Hasta la presente tesis no se habían reportado regiones específicas con significancia para estos cuatro caracteres.

980

981

982

BIBLIOGRAFÍA

- 983 Alvarez Prado, S., López, C.G., Gambín, B.L., Abertondo, V.J., Borrás, L., 2013. Dissecting
984 the genetic basis of physiological processes determining maize kernel weight using
985 the IBM (B73xMo17) Syn4 population. *Field Crops Research* 145, 33-43.
- 986 Alvarez Prado, S., López, C., Senior, L., Borrás, L. 2014. The genetic architecture of maize
987 (*Zea mays* L.) kernel weight determination. *G3-Genes-Genomes-Genetics* 4:1611-
988 1621.
- 989 Austin, D.F., Lee, .M., 1996. Comparative mapping in F2:3 and F6:7 generations of
990 quantitative trait loci for grain yield and yield components in maize. *Theor. Appl.*
991 *Genet.* 92: 817–826.
- 992 Austin, D.F.,. Lee,M., 1998. Detection of quantitative trait loci for grain yield and yield
993 components in maize across generations in stress and nonstress environments. *Crop*
994 *Sci.* 38: 1296–1308.
- 995 Austin, D.F., Lee, M., Veldboom, L.R., Hallauer, A.R., 2000. Genetic mapping in maize hybrid
996 progeny across testers and generations: grain yield and grain moisture. *Crop Sci*
997 40:30-39.
- 998 Beavis, W.D., Smith, O.S., Grant, D., Fincher, R., 1994.. Identification of Quantitative Trait
999 Loci using a small sample of topcrossed andF4 progeny from maize. *Crop Sci*
1000 34:882-896
- 1001 Bewley, J. D., Black, M., 1985. *Seeds: Physiology of Development and Germination.*
1002 Plenum, New York.
- 1003 Bingham, I. J.,Blake, J.,,. Foulkes,M. J., Spink, J. 2007. Is barley yield inthe UK sink limited?
1004 II. Factors affecting potential grain size. *Field CropsRes.* 101: 212–220.
- 1005 Borevitz, J.O., Maloof, J.N., Lutes, J., Dabi, T., Redfern, J.L., Trainer, G.T., Werner, J.D.,
1006 Asami, T., Berry, C.C., Weigel, D., Chory, J., 2002. Quantitative trait loci controlling
1007 light and hormone response in two accessions of *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* 160,
1008 683-696.
- 1009 Borrás, L., Westgate, M.E., Otegui, M.E., 2003. Control of kernel weight and kernel water
1010 relations by post-flowering source-sink ratio in maize. *Annals of Botany* 91:857-867.

- 1011 Borrás, L., Westgate, M.E., 2006. Predicting maize kernel sink capacity early in development.
1012 Field Crops Res. 95: 223–233.
- 1013 Borrás, L., Zinselmeier, C., Senior, M.L., Westgate, M.E., Muszynski, M., 2009.
1014 Characterization of grain-filling patterns in diverse maize germplasm. Crop Sci. 49:
1015 999–1009.
- 1016 Borrás, L., Gambín, B.L., 2010 Trait dissection of maize kernel weight: Towards integrating
1017 hierarchical scales using a plant growth approach. Field Crops Res. 118: 1–12.
- 1018 Bruns, H.A., Abbas, H.K., 2006. Planting date effects on Bt and non Bt corn in the Mid South
1019 USA. Agron. J. 98:100-106.
- 1020 Buckler, E. S., Holland, H.J.B., Bradbury, P.J., Acharya, C., Brown P.J., 2009. The genetic
1021 architecture of maize flowering time. Science 325:714–718.
- 1022 Calderini, D.F., Abeledo, G.L., Slafer, G.A., 2000. Physiological maturity in wheat based on
1023 kernel water and dry matter. Agronomy. J. 92:895–901.
- 1024 Capristo, P.R., Rizzalli, R.H., Andrade, F.H., 2007. Ecophysiological yield components of
1025 maize hybrids with contrasting maturity. Agronomy J. 99:1111–1118.
- 1026 CONAB, 2018. ISSN 2318-6852 A comp. safra bras. grãos, v. 9 Safra 2017/18 - Nono
1027 levantamento, Brasília, p. 1-178, junho 2018.
- 1028 Crane, P.L., Miles, S.R., Newman, J.E., 1959. Factors associated with varietal differences in
1029 rate of field drying in corn. Agron J 51:318-320.
- 1030 Cross, H.Z., 1985. A selection procedure for ear drying-rate in maize. Euphytica 34:409-418.
- 1031 Dijak, M., Modarres, A.M., Hamilton, R.I., Dwyer, L.M., Stewart, D.W., Mather, D.E., Smith,
1032 D.L. 1999. Leafy reduced-stature maize hybrids for short-season environments. Crop
1033 Sci 39:1106-1110.
- 1034 Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W.
1035 InfoStat versión 2018. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba,
1036 Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.

- 1037 Dwyer, L.M., Ma, B.L., Evenson, L., Hamilton, R.I. 1994. Maize physiological traits related to
1038 grain yield and harvest moisture in mid- to short-season environments. *Crop Sci*
1039 34:985–992.
- 1040 Freppon, J.T., St. Martin, S.K., Pratt, R.C., Henderlong, P.R., 1992. Selection for low ear
1041 moisture in corn, using a hand-held meter. *Crop Sci* 32:1062-1064.
- 1042 Frova, C., Krajewski, P., Di Fonzo, N., Villa, M., Sarli-Gorla, M., 1999. Genetic analysis of
1043 drought tolerance in maize by molecular markers. I. Yield components. *Theor. Appl.*
1044 *Genet.* 99: 280–288.
- 1045 Gambin, B.L., Borrás, L., Otegui, M.E., 2007. Kernel water relations and duration of grain fi
1046 lling in maize temperate hybrids. *Field Crops Res.* 101:1-9.
- 1047 Ganai, M.W., Durstewitz, G., Polley, A., Berard, A., Buckler, E.S., Charcosset, A., Clarke,
1048 J.D., Graner, E.M., Hansen, M., Joets, J., Paslier, M.C.L., McMullen, M.D., Montalent,
1049 P., Rose, M., Schon, C.C., Sun, Q., Walter, H., Martin, O.C., Falque, M., 2011. A
1050 large maize (*Zea mays* L.) SNP genotyping array: development and germplasm
1051 genotyping, and genetic mapping to compare with the B73 reference genome. *PLoS*
1052 *ONE* 6:e28334.
- 1053 Hallauer, A.R., Russell, W.A., 1961. Effects of selected weather factors on grain moisture
1054 reduction from silking to physiological maturity in corn. *Agron J* 53:225-229.
- 1055 Hallauer, A.R., Miranda, J.B., 1988. *Quantitative Genetics in Maize Breeding*, 2nd edition.
1056 Iowa State University Press, Ames.
- 1057 Holland, J.B., Moser, H.S., O'Donoghue, L.S., Lee, M., 1997. QTLs and epistasis associated
1058 with vernalization responses in Oat. *Crop Sci.* 37:1306–1316.
- 1059 Kearsey, M.J., Pooni, H.S., 1996. *The Genetical Analysis of Quantitative Traits*. Chapman
1060 and Hall, London.
- 1061 Kosambi, D.D., 1943. The estimation of map distances from recombination values. *Annals of*
1062 *Human Genetics* 12, 172-175.
- 1063 Laffite, H.R., Edmeades, G.O., Johnson, E.C., 1997. Temperature effects on radiation use
1064 and biomass partitioning in diverse tropical maize cultivars. *Field Crops Res.* 49:231-
1065 247.

- 1066 Lauer, J.G., Carter, P.R., Wood, T.M., Diezel, G., Wiersma, D.W., Rand, R.E., Mlynarek, M.J.
1067 1999. Corn hybrid response to planting date in the Northern Corn Belt. *Agron J*
1068 91:834-839
- 1069 Li, H., Ye, G., Wang, J., 2007. A modified algorithm for the improvement of composite
1070 interval mapping. *Genetics* 175: 361–374.
- 1071 Li, H., Ribaut, J.M., Li, Z., Wang, J., 2008. Inclusive composite interval mapping (ICIM) for
1072 digenic epistasis of quantitative traits in biparental populations. *Theor. Appl. Genet.*
1073 116: 243–260.
- 1074 Liu, X., J. Fu, D. Gu, W. Liu, T. Liu et al., 2008 Genome-wide analysis of gene expression
1075 profiles during the kernel development of maize (*Zea mays* L.). *Genomics* 91: 378–
1076 387.
- 1077 Magari, R, Kang, M.S., Zhang, Y. 1997. Genotype by environmentinteraction for ear moisture
1078 loss rate in corn. *Crop Sci* 37:774–779.
- 1079 Malosetti, M., Ribaut, J.M., Vargas, M., Crossa, J., van Eeuwijk, F.A., 2008. A multi-trait
1080 multi-environment QTL mixed model with an application to drought and nitrogen
1081 stress trials in maize (*Zea mays* L.). *Euphytica* 161, 241–257.
- 1082 Mather, D.E., Kannenberg, L.W., 1989. Correlations between grain yield and percentage
1083 grain moisture at harvest in Ontario hybrid corn trials. *Can J Plant Sci* 69:223-225.
- 1084 Melchinger, A.E., Utz, H.F., Schon, C.C., 1998. Quantitative trait locus (QTL) mapping using
1085 different testers and independent population samples in maize reveals low power of
1086 QTL detection and large bias in estimates of QTL effects. *Genetics* 149:383-403.
- 1087 Mihaljevic, R., Schon, C.C., Utz, H.F., Melchinger, A.E., 2005. Correlations and QTL
1088 correspondence between line per se and testcross performance for agronomic traits
1089 in four populations of European maize. *Crop Sci* 45:114-122
- 1090 Muchow, R.C., 1990. Effect of high temperature on grain-growth in fieldgrown maize. *Field*
1091 *Crops Res.* 23: 145–158.
- 1092 Otegui, M.E., Nicolini, M.G.,Ruiz, R., Dodds, P.A.,1995. Sowing date effects on grain yield
1093 components for different genotypes. *AGRON. J.* 87:29-33.

- 1094 Papst, C., Bohn, M., Utz, H.F., Melchinger, A.E., Klein, D., Eder, J., 2004. QTL mapping for
1095 European corn borer resistance(*Ostrinia nubilalis* Hb.), agronomic and forage quality
1096 traits of testcross progenies in early-maturing European maize (*Zea Mays* L.)
1097 germplasm. *Theor Appl Genet* 108:1545-1554
- 1098 Peiffer, J.A., Flint-García, S.A., De Leon, N., McMullen, M.D.,Kaepler, S.M., 2013. The
1099 genetic architecture of maize stalk strength. *PLoS ONE*8: 1–14.
- 1100 PRECOP, 2006. Actualización técnica PRECOP- INTA N°16.Radushev, D., 2007 Graph
1101 Pad Prism Demo version 5.0. Graph Pad Software,Inc., San Diego, CA.
- 1102 Purdy, J.L., Crane, P.L., 1967. Inheritance of drying rate in “mature” corn (*Zea mays* L.).
1103 *Crop Sci* 7:294-297.
- 1104 Radushev, D., 2007. Graph Pad Prism Demo version 5.0. Graph Pad Software, Inc., San
1105 Diego, CA.
- 1106 Reddy, V.M., Daynard, T.B., 1983. Endosperm characteristics associated with rate of grain
1107 filling and kernel size in corn. *Maydica* 28: 339–355.
- 1108 Ritchie, J.T., NeSmith, D.S., 1991. Temperature and crop development. p. 5–29. In J. Hanks
1109 and J.T. Ritchie (ed.) *Modellingplant and soil systems*. Agron. Monogr. 31. ASA,
1110 CSSA,SSSA: Madison, WI).
- 1111 Rondanini, D.P., Savin, R., Hall, A.J., 2007. Estimation of physiologicalmaturity in sunflower
1112 as a function of fruit water concentration. *Eur. J.Agron.* 26: 295–309.
- 1113 Saghai-MarooF, M., Soliman, K., Jorgensen, R.A., Allard, R., 1984. Ribosomal DNA spacer-
1114 length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and
1115 population dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA* 81:8014–8018.
- 1116 Sala, R.G., Andrade, F.H., Camadro, E.L., Cerono, J.C., 2006.Quantitative trait loci for grain
1117 moisture at harvest and field grain drying rate in maize (*Zea mays*, L.). *Theor Appl*
1118 *Genet.*112:462–471.
- 1119 Schmidt, J.L., Hallauer, A.R., 1966. Estimating harvest date of corn in the field. *Crop Sci*
1120 6:227–231.Schnyder, H., and U. Baum, 1992 Growth of the grain of wheat
1121 (*Triticumaestivum* L.). The relationship between water content and dry
1122 matteraccumulation. *Eur. J. Agron.* 1: 51–57.

- 1123 Schnyder, H., Baum, U., 1992. Growth of the grain of wheat (*Triticumaestivum* L.). The
 1124 relationship between water content and dry matter accumulation. *Eur. J. Agron.* 1: 51–
 1125 57.
- 1126 Schon, C.C., Melchinger, A.E., Boppenmaier, J., Brunklaus-Jung, E., Herrman R.G., et al.,
 1127 1994. RFLP mapping in maize: quantitative trait lociaffecting testcross performance of
 1128 elite European flint lines. *Crop Sci.* 34: 379–389.
- 1129 Sentz, J.C., 1971. Genetic variances in a synthetic variety of maize estimated by two mating
 1130 designs. *Crop Sci* 11:234-238
- 1131 Shapiro, S.S., Wilk, M.B., 1965. An analysis of variance for normality (complete samples).
 1132 *Biometrika* 52:591-611.
- 1133 Simko, I., McMurry, S., Yang, H.M., Manschot, A., Davies, P.J., Ewing, E.E., 1997. Evidence
 1134 from polygene mapping for a causal relationship between potato tuber dormancy and
 1135 abscisic acid content. *Plant Physiol* 115:1453-1459
- 1136 Swank, J.C., Egli, D.B., Pfeiffer, T.W., 1987. Seed growth characteristics of soybean
 1137 genotypes differing in duration of seed fill. *Crop Sci.* 27:85–89.
- 1138 Sweeney, P.M., St. Martin, S.K., Clucas, C.P., 1994. Indirect inbred selection to reduce grain
 1139 moisture in maize hybrids. *Crop Sci* 34:391–396.
- 1140 Troyer, A.F., Ambrose, W.B., 1971. Plant Characteristics affecting field drying rate of ear
 1141 corn. *Crop Science* 11:529-531.
- 1142 Wang, J., Li, H., Zhang, L., Meng, L., 2012. User's Manual of QTL Ici Mapping Version 3.2.
 1143 The Quantitative Genetics Group, Institute of Crop Science, Chinese Academy of
 1144 Agricultural Sciences (CAAS), Beijing 100081, China, and Genetic Resources
 1145 Program, International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT), Mexico,
 1146 D.F., Mexico.
- 1147 Yu, J., Holland, J.B., McMullen, M.D., Buckler, E.S., 2008. Genetic design and
 1148 statistical power of nested association mapping in maize. *Genetics* 178: 539–551.
- 1149 Zalapa, J.E., Staub, J.E., McCreight, J.D., Chung, S.M., Cuevas, H., 2007. Detection of QTL
 1150 for yield-related traits using recombinant inbred lines derived from exotic and elite US

- 1151 western shipping melon germplasm. *Theoretical and Applied Genetics* 114, 1185-
1152 1201.
- 1153 Zhang, Y., Kang, M.S., Magari, R., 1996. A diallel analysis of ear moisture loss rate in maize.
1154 *Crop Sci* 36:1140-1144
- 1155 Zhang, L., Li, H., Wang, J., 2012. The statistical power of inclusive composite interval
1156 mapping in detecting digenic epistasis showing common F2 segregation ratios. *J.*
1157 *Integr. Plant Biol.* 54: 270–279.
- 1158