

(Formerly MENDELIANA)



July 2023

Volume XXXIV

Issue 1

E-ISSN: 1852-6322

BAG

Journal of Basic & Applied Genetics

Breeding in Argentina

Mejoramiento Genético en la Argentina

Journal of the Argentine Society of Genetics
Revista de la Sociedad Argentina de Genética

www.sag.org.ar/jbag
Buenos Aires, Argentina

BAG

Journal of Basic & Applied Genetics

V. XXXIV – No. 1

July 2023

Included in:



Cited by:



BAG - Journal of Basic and
Applied Genetics

Not yet assigned
quartile

SJR 2021

0

powered by scimagojr.com

Editorial Board

Comité Editorial

Editor General:

Dra. Elsa L. Camadro

Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata. Balcarce, Argentina
bag.editor@sag.org.ar

Editores Asociados:

Citogenética Animal y Citogenética Vegetal

Dra. Liliana Mola

Depto. de Ecología, Genética y Evolución, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Buenos Aires, y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Buenos Aires, Argentina
limola@ege.fcen.uba.ar

Dra. Mariel Schneider

Dep. de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Paulo. São Paulo, Brasil
maricb@rc.unesp.br

Citogenética Vegetal

Dr. Julio R. Daviña

Instituto de Biología Subtropical, Universidad Nacional de Misiones. Posadas, Argentina
julordavina@fceqyn.unam.edu.ar

Genética de Poblaciones y Evolución

Dra. Mariana Pires de Campos Telles

Dep. de Genética, Laboratório de Genética & Biodiversidade, Escola de Ciências Médicas e Vida, Pontifícia Universidade Católica de Goiás e Universidade Federal de Goiás. Goiás, Brasil
tellsmpc@gmail.com

Dra. María Isabel Remis

Depto. de Ecología, Genética y Evolución, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Buenos Aires, Argentina
mariar@ege.fcen.uba.ar

Dr. Juan César Vilardi

Depto. de Ecología, Genética y Evolución, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Buenos Aires, y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Buenos Aires, Argentina
vilardi@bg.fcen.uba.ar

Genética Humana, Genética Médica, y Citogenética

Dra. María Inés Echeverría

Instituto de Genética, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza, Argentina
miecheve@fcm.uncu.edu.ar

Genética Humana

Dr. Carlos Bacino

Dept. of Molecular and Human Genetics, Baylor College of Medicine. Texas, USA
cbacino@bcm.edu

Genética Médica

Dr. José Arturo Prada Oliveira

Facultad de Medicina, Departamento de Anatomía Humana y Embriología, Universidad de Cádiz. Cádiz, España
arturo.prada@uca.es

Genética Médica y Molecular

Dr. Bernardo Bertoni Jara

Facultad de Medicina, Universidad de la República. Montevideo, República Oriental del Uruguay
bbertoni@fmed.edu.uy

Dra. Mev Domínguez Valentín

Oslo University Hospital. Oslo, Norway
mev.dominguez.valentin@rr-research.no

Genética Molecular Animal

Dr. Guillermo Giovambattista

Instituto de Genética Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. La Plata, Argentina
ggiovam@fcv.unlp.edu.ar

Genética Molecular Vegetal

Dr. Alberto Acevedo

Centro de Investigación de Recursos Naturales, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Hurlingham, Argentina
acevedo.alberto@inta.gob.ar

Dr. Andrés Zambelli

Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Balcarce, Argentina
andres.zambelli@mdp.edu.ar

Genética y Mejoramiento Animal

Dra. Liliana A. Picardi

Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario. Zavalla, Argentina
lpicardi@unr.edu.ar

Dra. María Inés Oyarzábal

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario. Rosario, Argentina
moyazabr@unr.edu.ar

Dr. Gustavo Rodríguez Reynoso

Universidad Agraria La Molina, y Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Lima, Perú
gustavogr@lamolina.edu.pe

Genética y Mejoramiento Genético Vegetal

Dra. Natalia Bonamico

Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Argentina
nbonamico@ayv.unrc.edu.ar

Dr. Ricardo W. Masuelli

Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo, y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Mendoza, Argentina
rmasuelli@fca.uncu.edu.ar

Dr. Rodomiro Ortiz

Dept. of Plant Breeding, Swedish University of Agricultural Science. Uppsala, Suecia
rodomiro.ortiz@slu.se

Dra. Mónica Poverene

Depto. de Agronomía, Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Argentina
poverene@criba.edu.ar

Dr. Pedro Rimieri

Profesional asociado y asesor científico-técnico. INTA, Pergamino. Buenos Aires, Argentina
primieri730@gmail.com

Genética de Microorganismos

Dra. Mariel Sanso

Facultad de Ciencias. Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Tandil, Argentina
msanso@vet.unicen.edu.ar

Mutagénesis

Dr. Alejandro D. Bolzán

Lab. de Citogenética y Mutagénesis, Instituto Multidisciplinario de Biología Celular, y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. La Plata, Argentina
abolzan@imbice.gov.ar

Consultor Estadístico

Dr. David Almorza

Facultad de Ciencias del Trabajo, Depto. de Estadística e Investigación Operativa, Universidad de Cádiz. Cádiz, España
david.almorza@uca.es

Secretaría de Redacción

Dra. María de las Mercedes Echeverría

Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad
Nacional de Mar del Plata. Balcarce, Argentina
mecheverria@mdp.edu.ar

Diseño y maquetación

Lic. Mauro Salerno

maurosalerano92@gmail.com

Corrección de estilo

Dra. Gabriela Leofanti

gabrielaleofanti@gmail.com

Comité de colaboradores

Dra. María Mercedes Ibañez

Facultad de Agronomía y Veterinaria,
Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto,
Córdoba, Argentina
mibanez@ayv.unrc.edu

Dr. Daniel Maizon

Estación Experimental Agropecuaria "Guillermo
Covas", Instituto Nacional de Tecnología
Agropecuaria, y Universidad Nacional de La
Pampa. Anguil, La Pampa, Argentina
maizon.daniel@inta.gob.ar

Dra. María Andrea Tomas

Estación Experimental Agropecuaria Rafaela,
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria;
Consejo Nacional de Investigaciones
Científicas y Técnicas; Universidad Nacional de
Rafaela. Rafaela, Santa Fe, Argentina
tomas.maria@inta.gob.ar

Imágen de tapa:

Plántulas de maíz con letales clorofílicos
yellow, de una línea endocriada segregante.
Típico de sistemas de letales balanceados
cigóticos ligados en repulsión, marcando el
segmento heterótico.

J. C. Salerno

Note from the General Editor

Nota del Editor General

The objective of the publication of *Volume XXXII (2) 2021*, on plant and animal breeding in Argentina, was to leave a record on the objectives, methods, advancements, and achievements of some consolidated programs as both a recognition of the relevant task carried out by the breeders and examples for future generations of the application of the principles and methods of Genetics in the development of basic germplasm and commercial genetic products.

In the present issue, the topic is treated in other plant species cultivated for human or animal consumption, in which classical selection, hybridization, and backcrossing methods based on the knowledge of Mendelian inheritance were applied. Moreover, and given the incorporation of biotechnology in breeding, the importance is discussed of the correct interpretation of the genotypic information to develop practical strategies of “molecular breeding” in order to give an answer to the real necessities of the programs.

La publicación del Volumen XXXII (2) 2021, sobre mejoramiento genético de plantas y animales en la Argentina, tuvo como objetivo dejar registro de los objetivos, métodos, avances y logros de algunos programas consolidados, como reconocimiento a la relevante tarea realizada por los mejoradores y en cuanto ejemplos para futuras generaciones de la aplicación de los principios y métodos de la Genética en el desarrollo de germoplasma básico y de productos genéticos comerciales.

En el presente fascículo se continúa con el tratamiento del tema en otras especies de plantas cultivadas para consumo humano o animal, en cuyos programas de mejoramiento genético se han aplicado métodos clásicos de selección, hibridación, y retrocruzamientos basados en el conocimiento de la herencia Mendeliana. Asimismo, y dada la incorporación de la biotecnología en el mejoramiento genético, se discute la importancia de la correcta interpretación de la información genotípica para desarrollar estrategias prácticas de “mejoramiento molecular” a fin de dar respuesta a necesidades reales de los programas.

Elsa L. Camadro

Julio de 2023

Contents

Contenidos

ARTICLE 1 RESEARCH

11 – 29



EXPANSION OF THE BASIC KNOWLEDGE ON THE INHERITANCE OF CHARACTERS THAT ALLOW THE DEVELOPMENT OF NEW MAIZE BREEDING TECHNIQUES

EXPANSIÓN DE LOS CONOCIMIENTOS BÁSICOS DE LA HERENCIA DE CARACTERES QUE POSIBILITEN DESARROLLAR NUEVAS TÉCNICAS DE MEJORAMIENTO EN MAÍZ

Salerno J.C., Kandús M.V., Prada A., Almorza D.

ARTICLE 2 RESEARCH

31 – 39



HISTORIA Y PERSPECTIVAS DEL MEJORAMIENTO GENÉTICO DEL MAÍZ FORRAJERO EN LA ARGENTINA

HISTORY AND PROSPECTS OF FODDER CORN BREEDING IN ARGENTINA

Rimieri P.

ARTICLE 3 RESEARCH

41 – 46



EL MEJORAMIENTO GENÉTICO DE CEBADILLA CRIOLLA (*Bromus catharticus* Vahl) EN ARGENTINA: SÍNTESIS DE LOS LOGROS Y AVANCES

THE GENETIC IMPROVEMENT OF PRAIRIE GRASS (*Bromus catharticus* Vahl) IN ARGENTINA: SYNTHESIS OF ACHIEVEMENTS AND ADVANCES

Martínez E.S., Rimieri P.

ARTICLE 4 RESEARCH

47 – 56



THE IMPORTANCE OF DEEP GENOTYPING IN CROP BREEDING

LA IMPORTANCIA DE LA GENOTIPIFICACIÓN PROFUNDA EN EL MEJORAMIENTO GENÉTICO

Zambelli A.

NOTE FROM THE EDITOR

57 – 62



CUESTIONES ÉTICAS EN LA PUBLICACIÓN CIENTÍFICA

ETHICAL ISSUES IN SCIENTIFIC PUBLICATION

Elsa L. Camadro

EXPANSION OF THE BASIC KNOWLEDGE ON THE INHERITANCE OF CHARACTERS THAT ALLOW THE DEVELOPMENT OF NEW MAIZE BREEDING TECHNIQUES



EXPANSIÓN DE LOS CONOCIMIENTOS BÁSICOS DE LA HERENCIA DE CARACTERES QUE POSIBILITEN DESARROLLAR NUEVAS TÉCNICAS DE MEJORAMIENTO EN MAÍZ

Salerno J.C.^{1,2,3}, Kandús M.V.^{1,2,3}, Prada A.⁴, Almorza D.⁵

¹INTA, Argentina

²Universidad de Morón (UM), Argentina; ³Universidad del Salvador (USAL), Argentina.

⁴Facultad de Medicina, Universidad de Cádiz, España.

⁵Facultad de Ciencias del Trabajo, Universidad de Cádiz, España

Corresponding author:

Juan Carlos Salerno

salernojc@hotmail.com

 ORCID 0000-0001-7190-0928

Cite this article as:

Salerno J.C., Kandús M.V., Prada A., Almorza D. 2023. EXPANSIÓN DE LOS CONOCIMIENTOS BÁSICOS DE LA HERENCIA DE CARACTERES QUE POSIBILITEN DESARROLLAR NUEVAS TÉCNICAS DE MEJORAMIENTO EN MAÍZ. BAG. Journal of Basic and Applied Genetics XXXIV (1): 11-29.

Received: 03/19/2022

Revised version received: 04/21/2022

Accepted: 07/05/2022

General Editor: Elsa Camadro

DOI: 10.35407/bag.2023.34.01.03

ISSN online version: 1852-6233

ABSTRACT

In order to increase the efficiency of maize hybrid seed production it is necessary to achieve a high grain yield to reduce production costs. This goal requires an expansion of the basic knowledge of the inheritance of characters in order to develop new breeding techniques to improve experimental materials with hard endosperm (*flint*). The balanced lethal system allows to study the relative contribution of different chromosome segments to hybrid vigour due to the heterozygosity of certain chromosome segments while the rest of the genome becomes homocytotic through continuous selfing. In this way, these segments can be transferred to inbred lines in order to increase grain yield or tassel size (to increase pollen production). The goal of this study was to transfer a heterotic segment by using a balanced lethal system regulated line (BLS14), through crosses and backcrosses, to S₅ flint lines derived from two commercial hybrids, ACA 2000 and Cóndor with closed pedigree, with the objective of increase grain yield or tassel size for pollen production. The analysis of variance (ANOVA) and principal components analysis (PCA) showed a significant improvement in grain yield and tassel size in the S₅ flint lines of both commercial hybrids, carrying the heterotic segment of the BLS14 line.

Key words: maize, heterotic segments, grain yield, inbred lines

RESUMEN

Para incrementar la eficiencia en la producción de semillas híbridas en maíz se necesitan altos rendimientos con un correlativo bajo costo de producción. Esto requiere una expansión de los conocimientos básicos de la herencia de caracteres que posibiliten desarrollar nuevas técnicas de mejoramiento sobre materiales experimentales de textura dura (*flint*). Los sistemas de letales balanceados permiten estudiar la contribución relativa de distintos segmentos heteróticos en el vigor híbrido dado que permiten lograr la heterocigosis cuasi-permanente de una porción del genomio, mientras el resto del genoma se vuelve homocigota por autofecundaciones sucesivas. Estos sistemas pueden ser transferidos a líneas endocriadas para incrementar el rendimiento del grano y el tamaño de la panoja para aumentar la producción de polen. El objetivo de este trabajo fue incorporar un segmento heterótico de una línea regulada por un sistema de letales balanceados (BLS14), mediante cruzamiento y retrocruza, a líneas S₅ derivadas de dos híbridos comerciales, ACA 2000 y Cóndor, de *pedigree* cerrado, con textura dura (*flint*), con la finalidad de aumentar el rendimiento en grano o el tamaño de la panoja para la producción de polen. Los análisis de variancia (ANOVA) y de componentes principales (ACP) mostraron un incremento significativo en el rendimiento del grano y el tamaño de la panoja de las líneas S₅ de ambos híbridos comerciales, portando cada una de ellas el segmento heterótico proveniente de la línea BLS14.

Palabras clave: maíz, segmentos heteróticos, rendimiento en grano, líneas endocriadas

Available online at

www.sag.org.ar/jbag

INTRODUCCIÓN

Para incrementar la eficiencia en la producción de semillas híbridas en maíz se necesitan altos rendimientos con un correlativo bajo costo de producción. La importancia de disponer de líneas de alto rendimiento para la formación de híbridos queda resaltada en los estudios realizados en Estados Unidos de América (EUA), indicando que desde 1930 el incremento de rendimiento de los híbridos sobre los padres es constante y que los mayores rendimientos se deben a líneas paternas más productivas (Duvick, 1977, 2001).

El logro de este objetivo requiere una expansión de los conocimientos básicos de la herencia de caracteres que posibiliten desarrollar nuevas técnicas de mejoramiento sobre materiales experimentales locales de textura dura (*flint*), especialmente, ya que en los últimos años hubo incorporación de germoplasma de textura blanda (*dent*), con un deterioro en la calidad final del grano, causando problemas en los sectores vinculados a su industrialización y exportación.

La Genética Cuantitativa incluye el estudio de acciones e interacciones de numerosos factores genéticos y su interacción con los factores ambientales en cada etapa del ciclo de vida de las plantas. Tanto los factores citoplásmicos como nucleares pueden ser incluidos.

El desarrollo de modelos genéticos cuantitativos teóricos utilizando conceptos mendelianos en Genética, incluyendo epistasia y ligamiento, comenzó en la segunda mitad del siglo pasado (Cockerham, 1954; Kempthorne, 1954; Schnell, 1963). También han sido desarrollados modelos para la estimación de parámetros genéticos y diseños de apareamiento (Comstock y Robinson, 1948, 1952; Griffing, 1956; Gardner y Eberhart, 1968), entre otros.

Los factores ambientales incluyen la competencia entre plantas intra e interespecífica, el daño por insectos y enfermedades, las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del suelo, los factores climáticos (que varían enormemente) y todas las prácticas culturales utilizadas en la producción de granos, sumado al estado de conocimiento en genética cuantitativa y sus aplicaciones en el mejoramiento genético vegetal y animal (Carson, 1967; Wright, 1968, 1978; Wallace, 1970; Mather y Jinks, 1971; Hartl, 1980; Falconer, 1981; Hallauer y Miranda, 1981; Gallais, 1990; Russell, 1991). Shikin (2003) propuso la Teoría de Juegos como una forma de resolución de conflictos entre el clima y el agricultor.

Los modelos genéticos y los diseños de apareamiento han probado ser extremadamente útiles para entender mecanismos y acciones genéticas cuantitativas y para desarrollar sistemas de mejoramiento (Cockerham, 1963). El uso de modelos matemáticos, estadísticos y genéticos, la simulación computada, el uso de diseños

de apareamiento especiales y diseños experimentales en ensayos a campo, han sido útiles para obtener la información básica que se requiere.

El descubrimiento del vigor híbrido en maíz es considerado una de las mayores innovaciones del siglo XX, y marca la consolidación de una verdadera industria de semillas. Estudios avanzados sobre la heterosis (o vigor híbrido) enfatizan que ésta no necesita estar basada en un gran número de genes, pero sería más frecuente el resultado de la combinación de variantes alélicas de unos pocos genes, por lo tanto, habría una cantidad considerable de vigor híbrido como resultado de las interacciones entre esos genes (Gustafsson, 1946; Whaley, 1964; Stuber *et al.*, 1992; Stuber, 1994; Crow, 1999).

No obstante, la aceptación general de la hipótesis de la dominancia para la heterosis, los recientes estudios de estimaciones fenotípicas y de análisis de QTL (*Quantitative Trait Loci*) para rendimiento en grano, demuestran verdadera sobredominancia (Lu *et al.*, 2002, 2003).

Posibles mecanismos para la superioridad de los heterocigotas incluyen la acción de selección de un mejor balance metabólico (Mangelsdorf, 1952), un control metabólico de flujos (Kacser y Burns, 1981), o selección para genes modificadores que favorecen a los heterocigotas (Fisher, 1928).

El mejoramiento en el comportamiento de los híbridos y sus padres fue constante desde 1930 a 1980 (Duvick, 1999a, 1999b). De esta manera, seleccionar sólo por aumento del rendimiento de las líneas puede indirectamente limitar la cantidad potencial de heterosis debido a la sobredominancia.

El maíz ha sido la primera especie que permitió aprovechar la heterosis, es decir la manifestación del vigor híbrido respecto a su progenitor más rendidor. Para lograr heterosis es imprescindible tener en cuenta la aptitud combinatoria (capacidad de una línea endocriada para dar descendencia híbrida caracterizada por la elevada expresión de un carácter o grupo de caracteres).

La metodología tradicional aplicada al mejoramiento genético del maíz fue desarrollada en EUA, basada en una búsqueda aleatoria en donde los cruzamientos óptimos se hallan según una metodología de cruzar todas las líneas mejoradas entre sí. A mayor cantidad de cruzamientos, mayor número de híbridos con alta heterosis entre los que se puede seleccionar, además, por características agronómicas. Esto implica la necesidad de partir de un volumen de material elevado para probar todas las combinaciones posibles, descartando en el proceso de selección la mayor parte del material. Kiesselbach (1951) estimó que de las 100.000 líneas de maíz que se habían ensayado por entonces, sólo unas 60 líneas serían promisorias y un par de ellas llegarían al final del proceso. En Argentina, Luna y Safont Lis

(1978) mostraron la falta de diversidad genética en el mejoramiento de maíz, que continúa en la actualidad, ya que los híbridos comerciales de mayor difusión están integrados por muy pocas líneas endocriadas de bajo rendimiento en grano y polen.

En forma resumida, con base en los conceptos mencionados en la técnica tradicional de obtención de híbridos de maíz importada de EUA para germoplasma de textura blanda, se observa que el número de líneas *flint* evaluadas en las pruebas de aptitud combinatoria ha sido muy alto también, pero el número de líneas efectivamente usadas en la producción ha sido muy bajo y con un uso prolongado por mucho tiempo.

Además de las 10 generaciones aproximadamente que se requieren para el desarrollo de las líneas endocriadas, las pruebas de aptitud combinatoria general y específica representan el 75% del costo de la semilla híbrida a comercializar. A esto se le suma el bajo rendimiento de las líneas madres, debido a la pérdida de vigor por endocria. Esto trae como consecuencia que para producir en gran escala el híbrido simple elegido, cuanto más bajo es el rendimiento de la línea madre, mayor será la superficie que se necesite sembrar para su multiplicación, encareciendo el costo final de producción de la semilla híbrida en aproximadamente un 25% por cada tonelada de disminución del rendimiento de la línea madre.

El estudio de la explotación de la heterosis en maíz es un área de interés esencial, tanto desde el punto de vista práctico, para la utilización del vigor híbrido como producto comercial, como del teórico, para el estudio de los mecanismos implicados en su expresión. Las poblaciones base de selección son el punto de partida para la obtención de líneas. Los cambios que ocurren en las poblaciones debido a la selección natural y artificial dependen de la diversidad genética de las mismas. Los loci con mutaciones que tienen un efecto perjudicial (deletéreo) en forma homocigota, son parte de esa diversidad genética. Estos genes mutantes aumentan la adaptabilidad de sus portadores heterocigotas y son llamados la “carga genética” de la población.

La definición más clara de este término es la expresada por Freire-Maia (1963), que considera que la carga genética es el precio que debe pagar toda población para sobrevivir y reproducirse a lo largo de su existencia. La moneda de pago son los distintos tipos de letalidad que pueden presentarse en una población. La carga genética permite la diferenciación, el grado de adaptabilidad y al mismo tiempo da una medida de la variabilidad genética. En este sentido, es muy importante considerar los mecanismos genéticos que pueden mantener la variabilidad genética, que constituye el componente esencial en el mejoramiento genético de las especies vegetales. La capacidad de una población no sólo se destaca por la respuesta de adaptación a un cambio ambiental, sino también por una alta efectividad en la selección artificial basada en una variedad de alelos.

Las mutaciones clorofílicas, debido a su fácil identificación y a la frecuencia de aparición, han sido utilizadas como indicadores de la actividad mutagénica de las radiaciones ionizantes y algunos mutágenos químicos (Muller, 1950). Además, las mutaciones clorofílicas son apropiadas para el estudio simultáneo de la mutación, la selección y los sistemas de apareamiento en las poblaciones vegetales. La frecuencia de mutaciones recesivas, como la mayoría de las mutaciones clorofílicas, da una idea objetiva de la variación genética dentro de una población. Favret y Godeck (1959) midieron el índice de mutación espontánea en cebada y otras gramíneas llegando a la misma conclusión, destacando en un trabajo posterior el posible uso de la heterocigosis permanente en cebada (Favret y Ryan, 1966).

Crumpacker (1967) hizo una revisión de la carga genética mostrando que la frecuencia de mutaciones recesivas es muy alta en diferentes poblaciones (salvajes y domesticadas), principalmente en maíz y en seres humanos.

El estudio de la carga genética en poblaciones de maíz fue encarado en profundidad en el Instituto de Genética “IGEAF” del INTA Castelar (CICVYA), en poblaciones locales de maíz de endosperma vítreo (*flint*), encontrando sistemas de letales balanceados, caracterizadas por el mantenimiento del vigor (Salerno, 1981, Salerno *et al.*, 1997, 1998, 1999, 2000, 2007; Boggio *et al.*, 1997).

Por otra parte, el vigor híbrido, definido como la superioridad de la F_1 sobre el mejor padre constituye una definición operativa, dado que aún no se han dilucidado sus bases fisiogenéticas. No obstante, se sabe que la expresión de este fenómeno depende de la condición heterocigota de una porción del genoma. Los sistemas de letales balanceados permiten estudiar la contribución relativa de distintos segmentos cromosómicos al vigor híbrido dado que permiten lograr la heterocigosis cuasi-permanente de ciertos segmentos cromosómicos, mientras el resto del genoma se vuelve homocigota por autofecundaciones sucesivas.

La utilización de los sistemas de letales balanceados que se pueden hallar en distintos sectores cromosómicos del genoma de maíz, es considerada una innovación biotecnológica y tiene la ventaja de permitir evaluar fácilmente el impacto del segmento con respecto a caracteres de interés agronómico, ya que este segmento se mantiene heterocigota a diferencia del resto del genoma y, además, permite el aprovechamiento comercial de las líneas obtenidas debido a la fijación del segmento heterocigota. De esta manera, las líneas endocriadas de las compañías semilleras que tienen buena aptitud combinatoria pero bajo rendimiento en grano o producción de polen, lo que impide su uso en el nivel comercial, pueden ser mejoradas y aprovechadas.

Por otro lado, la comprensión de los factores involucrados en el mantenimiento de los genes letales en maíz resulta interesante desde el punto de vista

teórico y práctico. En este sentido, el número total de genes involucrados en los letales clorofílicos no se conoce con exactitud. Emerson *et al.* (1935) mencionan aproximadamente 90 genes, Weijer (1952) compila un número de 120 genes, mientras que Riman (1963) menciona 180 genes. Se considera que 1×10^{-5} es un valor razonable de mutación espontánea (Crow, 1948), que coincidiría con un número de 200 genes para este carácter. El ligamiento de genes letales con otros genes que tienen un efecto favorable en caracteres de interés agronómico, como el rendimiento del grano en maíz, tenderá a mantener los genes letales en la población.

El siguiente modelo puede explicar esto:

$WA_1 > WA_2 > wA_2$

$WA_2 \quad WA_1 \quad wA_2$

→ disminuye la aptitud.

en el cual w es un gen recesivo (*albino*), A_1 es un alelo con una aptitud del locus que suma 0 a la aptitud del genotipo y A_2 es un alelo que suma una cantidad positiva a la aptitud del genotipo. El estado heterocigota en ambos loci ligados produce el genotipo con más ventaja; de esta manera, el gen w tenderá a permanecer en la población hasta que la recombinación produzca el genotipo de mayor aptitud, WA_2/WA_2 y WA_2/wA_2 , el cual comenzará luego a reemplazar al doble heterocigota y disminuir la frecuencia de w . Si A_2 muestra alguna dominancia sobre A_1 , o si A_1 y A_2 tienen sobredominancia en la combinación, el proceso de reemplazo para el gen será lento, permaneciendo muchas generaciones en la población.

El ligamiento entre estos genes clorofílicos con otros que regulan procesos de crecimiento, y la distribución de este tipo de letales en diferentes cromosomas del maíz, hace que la eliminación de plantas que segregan letales clorofílicos, como ocurre normalmente en los programas de mejoramiento genético, tienda a remover indefectiblemente genes favorables que están en el mismo cromosoma (Lindstrom, 1920; Jones, 1945, 1952; Gustafsson, 1946, 1947, 1953; Band e Ives, 1961; Band, 1963; Apirion y Zohary, 1961; Redei, 1962; Allard y Bradshaw, 1964).

Todas estas evidencias llevarían a considerar que la sobredominancia asociada con ligamiento es un factor que puede involucrarse en el mantenimiento de genes letales en poblaciones autógamas como cebada, trigo, sorgo y, además, en ciertos casos es posible detectar su efecto contra un espectro genético relativamente heterocigota.

De esta manera, se puede concluir que la incidencia de genes letales tiene similitud en el comportamiento de las poblaciones de maíz, *Drosophila* y en el ser humano. Los procesos involucrados en el mantenimiento de los genes letales incluyen la mutación, migración, selección para varios tipos, deriva génica, ligamiento y endocría. Estos factores interactúan entre sí y con los factores biológicos

y fisiológicos del ambiente en procesos complejos, determinando la estructura genética poblacional para el mejoramiento genético.

En este trabajo se evaluó la incorporación de un segmento heterótico de una línea regulada por un sistema de letales balanceados (BLS14) en dos líneas de maíz de *pedigree* cerrado, provenientes de los híbridos comerciales ACA 2000 y Cóndor. Para ello se midieron caracteres que contribuyen a la mayor eficiencia de las líneas endocriadas *per se* con textura *flint*, que tienen bajo rendimiento en grano y poca producción de polen, para producir híbridos simples de maíz, destacando particularmente el rendimiento en grano y caracteres asociados para la línea materna y la producción de polen y caracteres asociados por parte de la línea paterna, indispensable para reducir el costo de producción de la semilla híbrida. La incorporación de segmentos heteróticos, con caracteres de importancia agronómica mediante la retrocruza, permitiría contribuir en forma económica en los programas de mejoramiento públicos y privados. Además, el uso de cadenas de Markov puede ayudar a dilucidar la longitud de estos segmentos heteróticos con un modelo de simulación de la distancia del ligamiento.

El objetivo general del trabajo fue evaluar una metodología alternativa aplicando la fitotecnia clásica para mejorar aspectos relevantes de la producción de semillas, como son el incremento del rendimiento en grano y el tamaño de la panoja en líneas endocriadas de maíz.

El objetivo específico fue incorporar un segmento heterótico diferente en el genoma de líneas S_5 derivadas de dos híbridos comerciales de maíz de textura *flint*, con la finalidad de aumentar su rendimiento en grano y/o su producción de polen mediante el aumento del tamaño y el número de ramificaciones de la panoja, complementando el estudio con un análisis de componentes principales (ACP) y verificar, mediante una simulación teórica, la importancia de la distancia del ligamiento en los sistemas de letales balanceados para mantener el segmento heterótico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se muestra a modo de ejemplo la utilización de una línea de maíz del Instituto de Genética "IGEAF" del INTA Castelar (CICVYA), que presenta un sistema de letal balanceado portador de un segmento heterótico, denominada LP BLS14 (Registro Nacional de la Propiedad de Cultivares 571 del INASE, 1995), con 29 años de endocría y, líneas S_5 derivadas de la autofecundación continua de dos híbridos comerciales de textura *flint*, ACA2000 y Cóndor, de *pedigree* cerrado, lo cual obligó a realizar este procedimiento de obtención de las respectivas líneas.

Se realizaron cruzamientos controlados a mano entre la línea de maíz portadora del segmento heterótico utilizada como padre (LP), con las líneas S₅ de los híbridos comerciales ACA 2000 (LM ACA2000) y Cóndor (LM Cóndor) utilizadas como madres. En el invierno se realizaron pruebas de progenie en invernáculo para determinar el origen por cruzamiento. Para ello se sembraron 33 semillas de cada cruzamiento en cama de arena y con temperatura controlada en invernáculo. Posteriormente, en el estado de segunda hoja se caracterizaron las plántulas en normales o letales del tipo clorofílico.

En la generación siguiente se realizó a mano la primera retrocruza (R₁) con respecto a las líneas originales LM ACA2000 y LM Cóndor. Al mismo tiempo se autofecundaron todas las líneas para su multiplicación e incremento de la endocría. En el invierno se realizó nuevamente la prueba de progenie en invernáculo para verificar el origen por cruzamiento y la presencia del sistema de letal balanceado en las autofecundaciones de las líneas *per se*. Al año siguiente se realizó a mano la segunda retrocruza (R₂) con las líneas originales LM ACA2000 y LM Cóndor. Por cruzamientos con la línea LP BLS14 se avanzó una generación más de retrocruza (R₃).

Luego se evaluó el comportamiento de las líneas derivadas de los híbridos comerciales en combinación con la línea BLS14 en ensayos comparativos de rendimiento.

Se empleó un diseño en bloques completos al azar, con tres repeticiones y parcelas de dos surcos de 3,5 m x 1,4 m. La densidad fue de 75.000 plantas por hectárea a cosecha. Toda la siembra y cosecha se realizó en forma manual, en el campo experimental del Instituto de Genética, para la línea evaluada (LM ACA2000, LM Cóndor, LP BLS14) y las distintas retrocruzas.

Para la variable rendimiento en grano (KGHA), se trilló cada parcela del ensayo con una trilladora de ensayos experimentales marca Forti y se pesó el grano con una balanza de precisión EL-5, que se utilizó también para determinar el peso de 100 semillas en gramos (P100K). La humedad del grano en % se determinó con un higrómetro portátil Delver (HD10121J). El peso total del grano se llevó al valor estable de comercialización de 14,5% de humedad, aplicando la siguiente fórmula: $(\text{kg ha}^{-1}) = \text{Peso del grano trillado} / 85,5 \times (100 - \% \text{ humedad del grano a la cosecha})$. Las variables de medición como longitud de espiga (LE), profundidad del grano (TG, calculada por diferencia del diámetro de espiga y diámetro del marlo) y longitud de la panoja (LP), se midieron con una regla. El número de hileras de granos de la espiga (NH) se contó a mano. El porcentaje de marlo (%MARLO) se determinó por diferencia del peso total de la espiga con el peso total del marlo que fue llevado a porcentaje. La altura de planta (HP) y la altura de inserción de espiga (HE) se midieron con una regla especial que permite la medición automática de cada

planta. El número de ramificaciones de la panoja (NRP) se contó en forma manual.

Se realizó un análisis de variancia (ANOVA) y se utilizó la prueba de Tukey para la comparación de medias ($\alpha=0,05$) solamente cuando se observó diferencia significativa de *p*.

Se efectuó un análisis de componentes principales (ACP) para determinar la correlación entre variables y su relación con la línea evaluada (LM ACA2000, LM Cóndor y LP BLS14) y las distintas retrocruzas. Las variables se evaluaron en dos grupos: KGHA, LE, P100K, NH, TG y %MARLO, por un lado y HP, HE, LP y NRP, por otro. El ANOVA y el ACP se llevaron a cabo con el programa Infostat/profesional, versión 2007p (Infostat, 2004).

Para complementar el estudio de la evolución de los segmentos cromosómicos a través de las generaciones de endocría, haciendo uso de las cadenas de Markov, se realizó el análisis de los estados absorbentes, incorporando el factor de distancia del ligamiento y determinando las frecuencias de acción de los sistemas involucrados. De esta manera se puede determinar el número de generaciones que los sistemas pueden permanecer en las líneas en cuestión, variando la distancia del ligamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Hallauer y Miranda (1981) realizaron un resumen de varios estudios en maíz, encontrando que las correlaciones de distintos atributos con el rendimiento fueron mayores para caracteres relacionados con la espiga (como longitud y diámetro de espiga, profundidad del grano, peso del grano, número de hileras de granos por espiga). De estos caracteres, la profundidad del grano fue el más asociado al rendimiento; sin embargo, ningún carácter por sí solo posee las condiciones necesarias para realizar una selección indirecta.

La asociación entre caracteres que involucren el rendimiento en grano es un aspecto importante para tener en cuenta en los programas de mejoramiento, ya que los cambios por selección en un carácter dado pueden afectar positiva o negativamente a otros caracteres (Vencovsky y Barriga, 1992).

Recientemente se encontró que las correlaciones entre peso de mil semillas, longitud de espiga, diámetro de espiga, longitud del grano, tamaño del grano y altura de planta en maíz, fueron positivas y significativas (Brandolini y Brandolini, 2001).

Resultados de la línea LM ACA 2000 (RD)

RDI. Análisis de variancia de las variables consideradas para la línea materna LM ACA2000 con la introgresión del segmento heterótico de la línea paterna LP BLS14

RDIA. Rendimiento en grano (kg ha^{-1})

Se observó un incremento del rendimiento en grano de las retrocruzas con respecto a la línea materna LM ACA2000 original, con la incorporación del segmento heterótico en forma individual, siendo el rendimiento la principal variable a tener en cuenta en el mejoramiento de las líneas de maíz y objetivo primario de la producción de semilla híbrida (Tabla 1 y Figuras 1 y 2). En la Tabla 1 se muestra el análisis de la variancia de las retrocruzas con el segmento heterótico con respecto a la misma línea LM ACA2000 original. Este esquema se repite en todas las variables evaluadas para una mejor interpretación en su conjunto del comportamiento de las retrocruzas de cada segmento a la línea materna LM ACA2000.

El segmento heterótico de la línea de maíz paterna LP BLS14 de endosperma *flint* fue localizado en las cercanías del centrómero del cromosoma 6, con un 6% de recombinación (Salerno y Díaz, 1992). En coincidencia con estos resultados, una publicación posterior del grupo del “Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura”, Bergamo-Italia (Ajmone-Marsan *et al.*, 1995), encontró un QTL (*Quantitative Trait Loci*) para la producción de grano en la región cromosómica cercana al centrómero del cromosoma 6 de maíz, con endosperma no definido. Este QTL posee un *lod score* de 7,4 que según lo mencionan los autores explicó 24,5% del total de la variación fenotípica detectada para la producción de grano, y mostró un efecto promedio de sustitución alélica de 1 tonelada por hectárea. Estos resultados confirman la importancia de la región del genoma analizada en este trabajo.

RDIB. Longitud de espiga (mm)

Se observó un incremento en la longitud de espiga de las retrocruzas con respecto a la línea materna LM ACA2000 original, siendo la misma no significativa en el caso de la introgresión del segmento heterótico de la línea paterna LP BLS14 poniendo de manifiesto la importancia de la incorporación del segmento heterótico (Tabla 1 y Figuras 2 y 3).

RDIC. Peso de 100 semillas (g)

Se observó un aumento significativo en el peso de 100 semillas de las retrocruzas evaluadas con respecto a la línea materna LM ACA2000 original (Tabla 1 y Figura 4).

RDID. Número de hileras de granos de la espiga

Se observaron valores similares en el número de hileras de granos de las retrocruzas evaluadas, siendo significativa para la introgresión de la línea materna LM ACA 2000 original con la línea paterna LP BLS14 (Tabla 1 y Figura 5).

RDIE. Profundidad del grano (mm)

La profundidad del grano en las retrocruzas se incrementó con respecto a la línea materna LM ACA2000 original (Tabla 1). Esta variable obtenida por diferencia de las variables diámetro de la espiga y diámetro del marlo, pone de manifiesto el incremento de productividad de la línea receptora, orientada al objetivo buscado (Figura 6).

RDIF. Porcentaje de marlo (%)

El porcentaje de marlo fue menor en las retrocruzas que en la línea materna LM ACA2000 original (Tabla 1 y Figura 7).

RDIG. Humedad del grano a la cosecha (%)

La humedad del grano a la cosecha mostró valores distintos en las retrocruzas, con respecto a la línea materna LM ACA2000 original (Tabla 1 y Figura 8).

RDIH. Altura de planta y de inserción de espiga (cm)

La altura de planta y de inserción de espiga en las retrocruzas se incrementó con respecto a la línea materna LM ACA2000 original, como resultado del mayor vigor que presenta la línea materna LM ACA2000 retrocruzada (Tabla 1 y Figura 9).

RDII. Longitud de la panoja (mm)

La longitud de la panoja se incrementó en las retrocruzas con respecto a la línea materna LM ACA2000 original, lo que destaca la importancia de esta variable para la producción de polen (Tabla 1 y Figuras 10 y 11). El tamaño de la panoja es importante en la producción de polen, especialmente en condiciones de estrés, ya sea de temperatura y/o humedad (Duplessis y Dijkhuis, 1967).

RDIJ. Número de ramificaciones de la panoja

Se observó un aumento en el número de ramificaciones de la panoja de las retrocruzas con respecto a la línea materna LM ACA2000 original. Se destaca que, con una mayor longitud y un mayor número de ramificaciones aumenta la producción de polen (Berbecel y Eftimescu, 1973) (Tabla 1 y Figuras 11 y 12).

Algunos estudios demostraron que los caracteres de la panoja tienen un rango de heredabilidad de 46 a 89%, estableciendo ocho factores genéticos involucrados en la determinación del número de ramificaciones de la panoja (Mock y Schuetz, 1974).

Similar heredabilidad fue determinada por Schuetz y Mock (1978) y Geraldí *et al.* (1985). Se encontraron tres QTL para el ángulo de las ramificaciones y seis QTL para el número de ramificaciones de la panoja, asociados a producción (Mickelson *et al.*, 2002). Berke y

RocheFord (1999) encontraron seis QTL para el ángulo de las ramificaciones, tres QTL para el número de ramificaciones de la panoja y siete QTL para el peso de la panoja.

Tabla 1. Análisis de la variancia de caracteres para la línea materna LM ACA2000 con la introgresión la línea paterna BLS14 como fuente de variación

Carácter	g.l.	CM	p	CV (%)	dms*
Rendimiento en grano (kg ha ⁻¹)	5	23895136,86	<0,0001	9,00	17,11
Longitud de espiga (mm)	5	1427,17	0,0511	11,09	
Peso de 100 semillas (g)	5	155,69	<0,0001	8,38	7,66
Número de hileras de granos	5	5,33	0,0216	7,82	3,11
Profundidad del grano (mm)	5	264,06	0,0001	10,75	4,79
Porcentaje de marlo	5	59,83	0,0003	13,10	5,88
Porcentaje de humedad del grano a cosecha	5	27,00	0,0007	8,45	4,35
Altura de planta (cm)	5	1608,40	0,0001	3,88	22,11
Altura de inserción de espiga (cm)	5	1402,99	<0,0001	5,03	12,68
Longitud de la panoja (mm)	5	4349,29	0,0155	8,33	84,16
Número de ramificaciones de la panoja	5	27,12	0,0298	12,44	7,39

*: diferencia mínima significativa (Test Tukey, $\alpha = 0,05$)

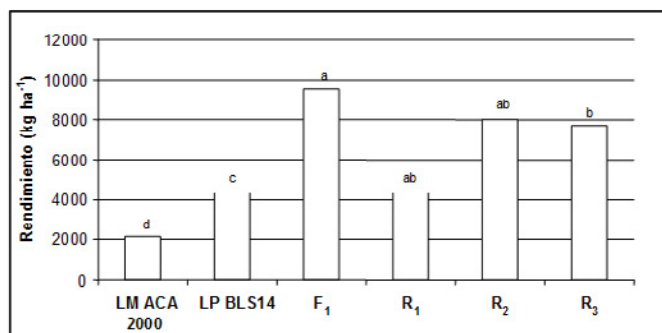


Figura 1. Rendimiento en grano (kg ha⁻¹) de las líneas progenitoras LM ACA2000, LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁, R₂ y R₃. (LM= Línea materna; LP= Línea paterna). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% con el test de Tukey. (Reproducido de Salerno *et al.*, 2010)



Figura 2. Espigas de las líneas progenitoras LM ACA2000 (Foto: LE ACA2000), LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁, R₂ y R₃. (Reproducido de Salerno *et al.*, 2010)

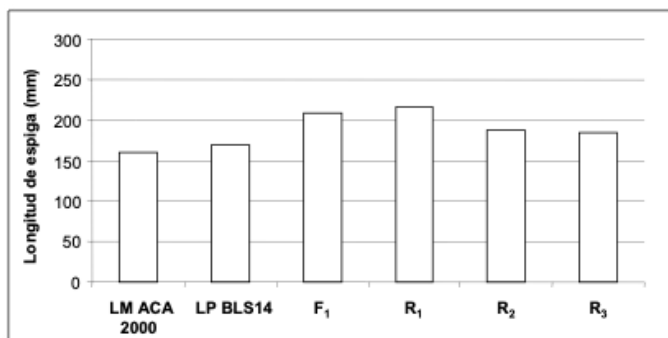


Figura 3. Longitud de espiga (mm) de las líneas progenitoras LM ACA2000, LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁, R₂ y R₃.

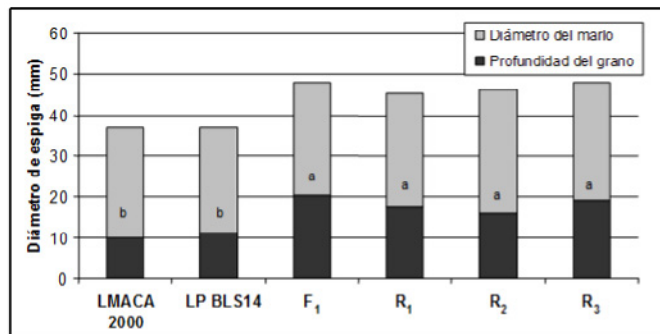


Figura 6. Profundidad del grano (mm), obtenida por diferencia entre el diámetro de espiga y diámetro del marlo, de las líneas progenitoras LM ACA2000 y LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁, R₂ y R₃. Letras distintas indican diferencias significativas al 5% con el test de Tukey.

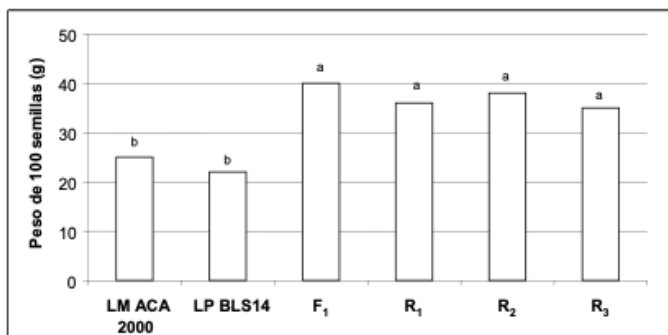


Figura 4. Peso de 100 semillas (g) de las líneas progenitoras LM ACA2000, LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁, R₂ y R₃. Letras distintas indican diferencias significativas al 5% con el test de Tukey.

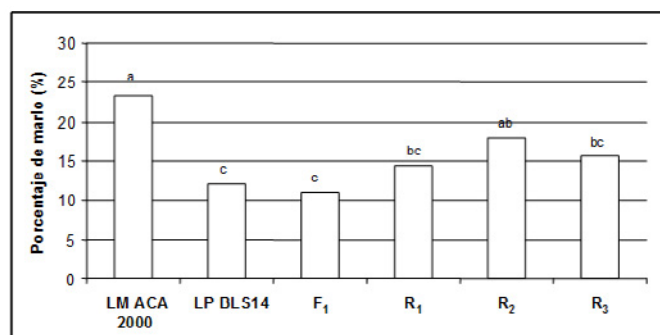


Figura 7. Porcentaje de marlo de las líneas progenitoras LM ACA2000 y LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁, R₂ y R₃. Letras distintas indican diferencias significativas al 5% con el test de Tukey.

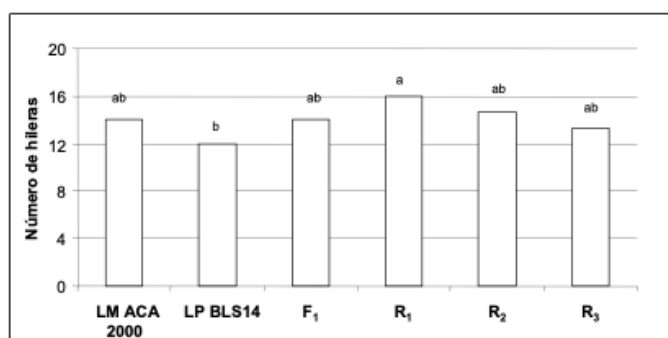


Figura 5. Número de hileras de granos de la espiga de las líneas progenitoras LM ACA2000, LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁, R₂ y R₃. Letras distintas indican diferencias significativas al 5% con el test de Tukey.

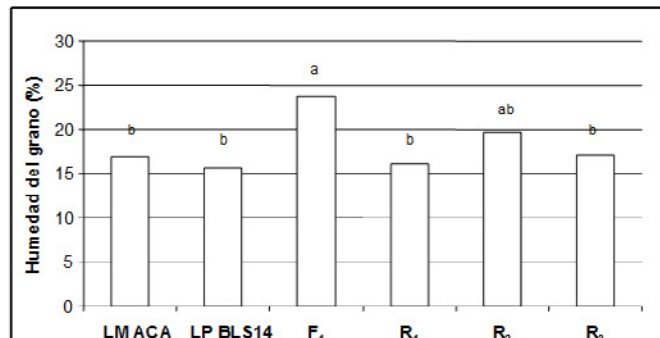


Figura 8. Humedad del grano a la cosecha (%) de las líneas progenitoras LM ACA2000 y LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁, R₂ y R₃. Letras distintas indican diferencias significativas al 5% con el test de Tukey.

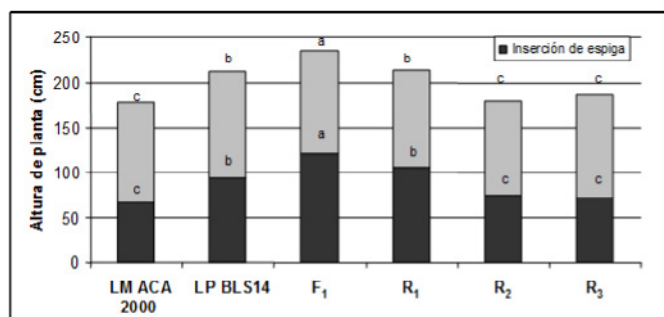


Figura 9. Altura de planta y de inserción de espigas (cm) de las líneas progenitoras LM ACA2000 y LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁, R₂ y R₃. Letras distintas indican diferencias significativas al 5% con el test de Tukey.

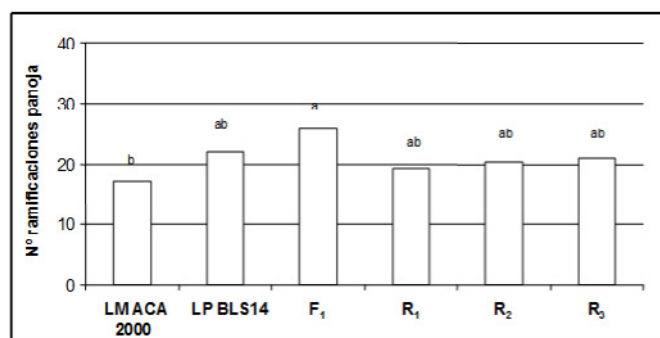


Figura 12. Ramificación de la panoja de las líneas progenitoras LM ACA2000 y LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁, R₂ y R₃. Letras distintas indican diferencias significativas al 5% con el test de Tukey.

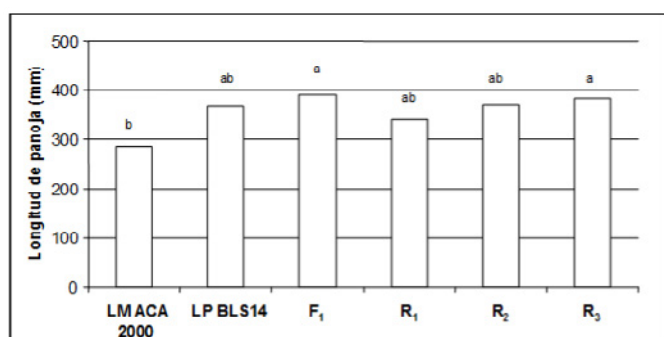


Figura 10. Longitud de la panoja (mm) de las líneas progenitoras LM ACA2000 y LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁, R₂ y R₃. Letras distintas indican diferencias significativas al 5% con el test de Tukey. (Reproducido de Salerno *et al.*, 2010)



Figura 11. Panojas de las líneas progenitoras LM ACA2000 (Foto: LE ACA2000) y LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁, R₂ y R₃. (Reproducido de Salerno *et al.*, 2010)

Resultados de la línea LM Cóndor (RDV)

RDVI. Análisis de variancia de las variables consideradas para la línea materna LM Cóndor con la introgresión del segmento heterótico de la línea paterna LP BLS14

RDVIa. Rendimiento en grano (kg ha⁻¹)

Se observó un incremento del rendimiento en grano de las retrocruzadas con respecto a la línea materna LM Cóndor original, con la incorporación del segmento heterótico en forma individual, de la misma manera encontrada para la línea materna LM ACA2000, confirmando la principal variable a tener en cuenta en el mejoramiento de las líneas de maíz y objetivo primario de la producción de semilla híbrida (Tabla 2 y Figuras 13 y 14).

RDVIb. Longitud de espiga (mm)

Se observó un incremento en la longitud de espiga en las retrocruzadas con respecto a la línea materna LM Cóndor original (Tabla 2 y Figura 15).

RDVIc. Peso de 100 semillas (g)

Se observó un comportamiento similar en el peso de 100 semillas en las retrocruzadas con respecto a la línea materna LM Cóndor original (Tabla 2 y Figura 16).

RDVID. Número de hileras de granos de la espiga

El número de hileras de granos de la espiga en las retrocruzadas fue mayor que el de la línea materna LM Cóndor original (Tabla 2 y Figura 17).

RDVIf. Profundidad del grano (mm)

La profundidad del grano en las retrocruzas se incrementó con respecto a la línea materna LM Cóndor original (Tabla 2). Esta variable obtenida por diferencia de las variables diámetro de la espiga y diámetro del marlo, pone de manifiesto el incremento de productividad alcanzado por la línea receptora, orientada al objetivo buscado (Figura 18).

RDVIf. Porcentaje de marlo (%)

El porcentaje de marlo en las retrocruzas fue menor que en la línea materna LM Cóndor original (Tabla 2 y Figura 19).

RDVIg. Humedad del grano a la cosecha (%)

La humedad del grano a la cosecha en las retrocruzas fue mayor que en la línea materna LM Cóndor original, pero no hubo diferencia significativa (Tabla 2 y Figura 20).

RDVIh. Altura de planta y de inserción de espiga (cm)

La altura de planta y de inserción de espiga en las retrocruzas fueron mayores que en la línea materna LM Cóndor original (Tabla 2, y Figura 21).

RDVIi. Longitud de la panoja (mm)

La longitud de la panoja en las retrocruzas fue significativamente mayor que en la línea materna LM Cóndor original (Tabla 2 y Figura 22).

RDVIj. Número de ramificaciones de la panoja

El número de ramificaciones de la panoja fue mayor en las retrocruzas que en la línea materna LM Cóndor original (Tabla 2 y Figuras 23 y 24).

Tabla 2. Análisis de la varianza de caracteres para la línea materna LM Cóndor con la introgresión de la línea paterna BLS14 como fuente de variación

Carácter	g.l.	CM	p	CV (%)	dms*
Rendimiento en grano (kg ha ⁻¹)	4	27217103,57	<0,0001	14,46	2734
Longitud de espiga (mm)	4	919,60	0,0001	4,41	19
Peso de 100 semillas (g)	4	100,50	<0,0001	5,93	5,10
Número de hileras de granos	4	5,60	0,0013	5,42	2
Profundidad del grano (mm)	4	54,23	0,0001	10,50	4,50
Porcentaje de marlo	4	40,93	0,0004	12,07	4,50
Porcentaje de humedad del grano a cosecha	4	15,71	0,0001	5,05	2,40
Altura de planta (cm)	4	1722,23	0,0003	5,48	28,21
Altura de inserción de espiga (cm)	4	579,07	0,0038	9,86	22,97
Longitud de la panoja (mm)	4	5661,10	0,0027	7,25	68,64
Número de ramificaciones de la panoja	4	66,90	0,0008	14,64	6,32

*: diferencia mínima significativa (Test Tukey, α= 0,05)

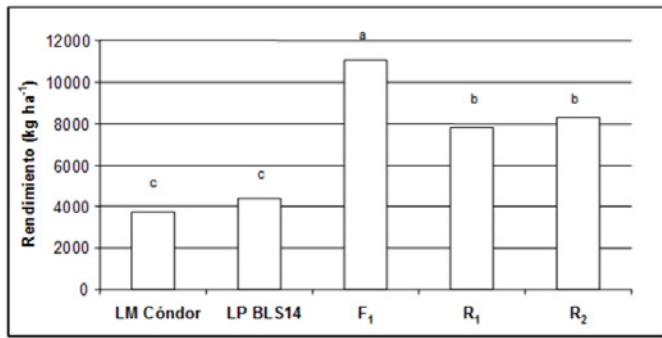


Figura 13. Rendimiento en grano (kg ha⁻¹) de las líneas progenitoras LM Cóndor, LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁ y R₂ (LM= Línea materna; LP= Línea paterna). Letras distintas indican diferencias significativas al 5% con el test de Tukey.

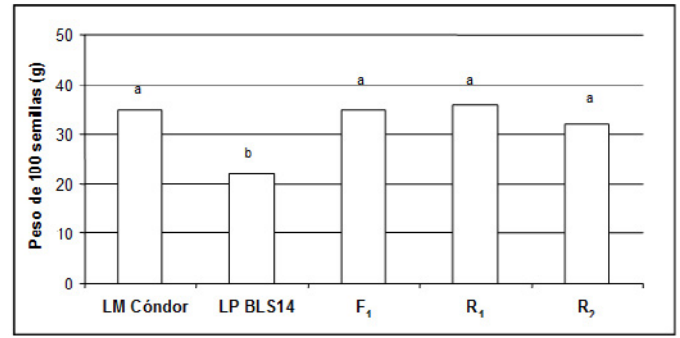


Figura 16. Peso de 100 semillas (g) de las líneas progenitoras LM Cóndor, LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁ y R₂. Letras distintas indican diferencias significativas al 5% con el test de Tukey.

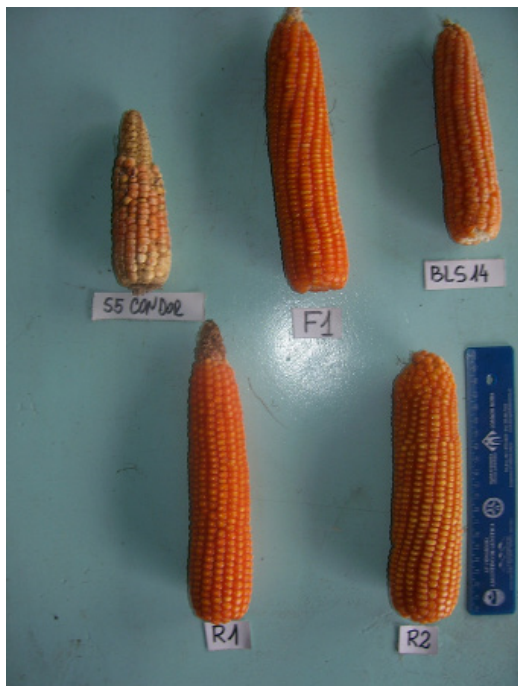


Figura 14. Espigas de las líneas progenitoras LM Cóndor (Foto S5 Cóndor), LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁ y R₂

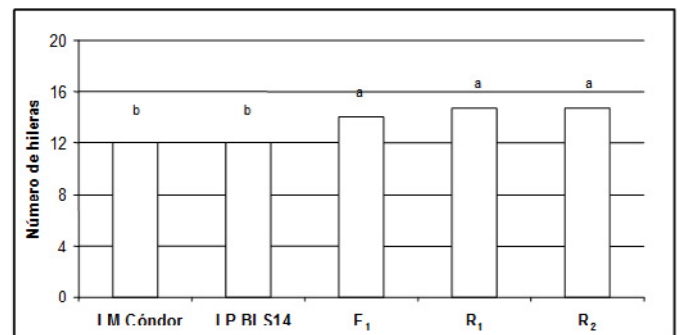


Figura 17. Número de hileras de granos de las líneas progenitoras LM Cóndor, LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁ y R₂. Letras distintas indican diferencias significativas al 5% con el test de Tukey.

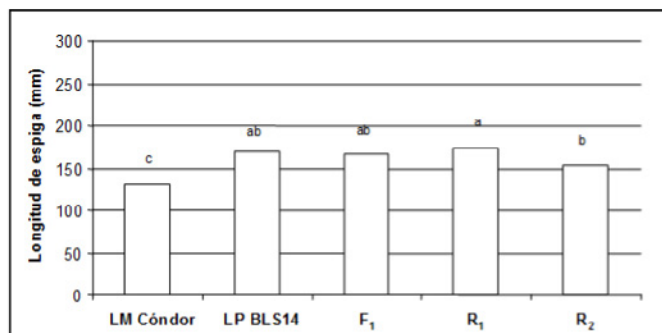


Figura 15. Longitud de espiga (mm) de las líneas progenitoras LM Cóndor, LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁ y R₂. Letras distintas indican diferencias significativas al 5% con el test de Tukey.

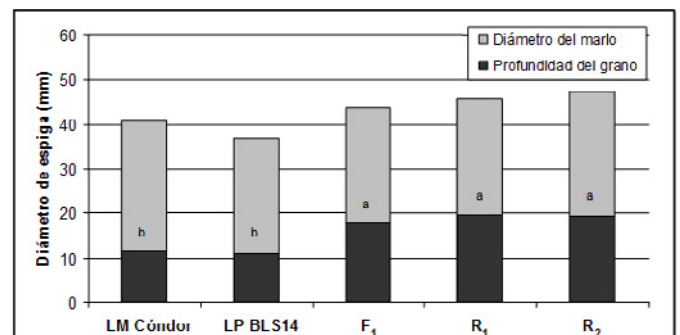


Figura 18. Profundidad del grano (mm) obtenida por diferencia entre el diámetro de espiga y diámetro del marlo de las líneas progenitoras LM Cóndor y LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁ y R₂. Letras distintas indican diferencias significativas al 5% con el test de Tukey.

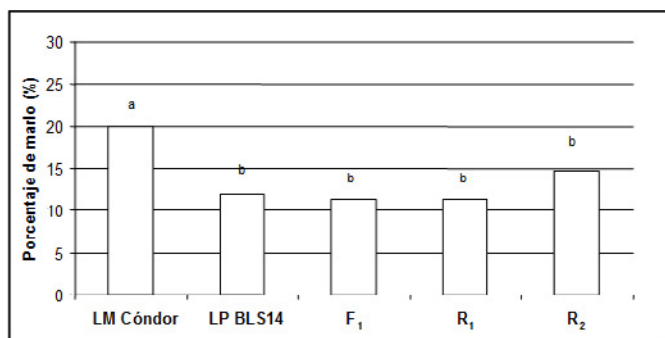


Figura 19. Porcentaje de marlo de las líneas progenitoras LM Cóndor y LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁ y R₂. Letras distintas indican diferencias significativas al 5% con el test de Tukey.

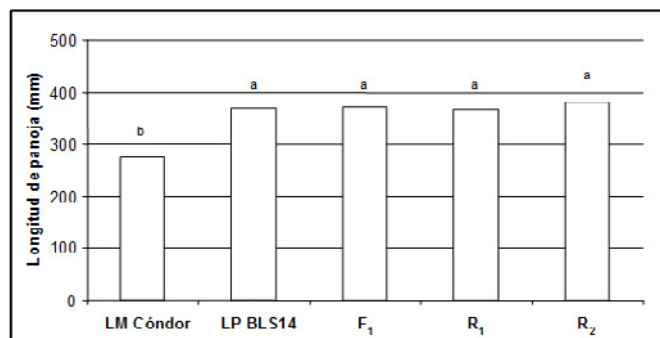


Figura 22. Longitud de la panoja (mm) de las líneas progenitoras LM Cóndor y LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁ y R₂. Letras distintas indican diferencias significativas al 5% con el test de Tukey.

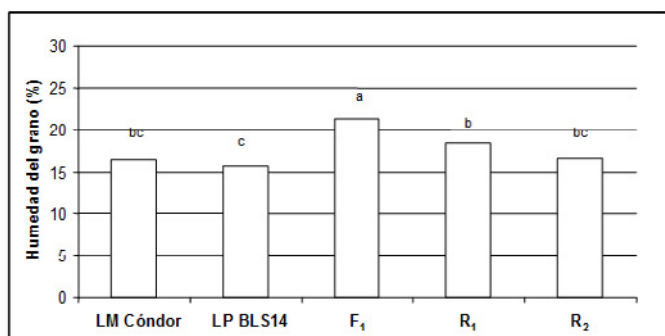


Figura 20. Humedad del grano a la cosecha (%) de las líneas progenitoras LM Cóndor y LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁ y R₂. Letras distintas indican diferencias significativas al 5% con el test de Tukey.

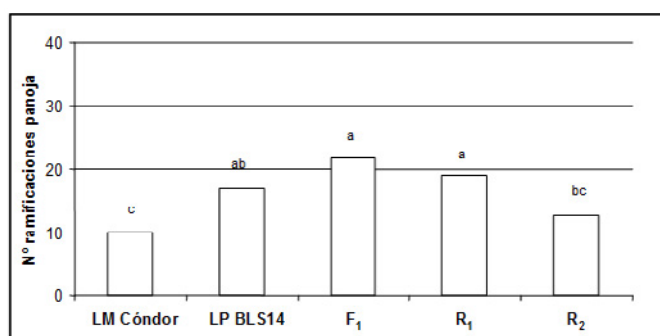


Figura 23. Número de ramificaciones de la panoja de las líneas progenitoras LM Cóndor y LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁ y R₂. Letras distintas indican diferencias significativas al 5% con el test de Tukey.

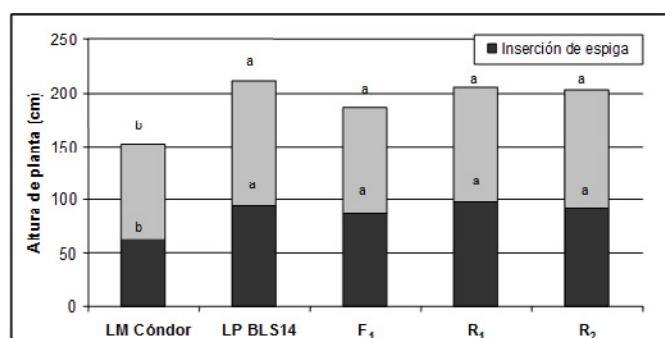


Figura 21. Altura de planta y de inserción de espiga (cm) de las líneas progenitoras LM Cóndor y LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁ y R₂. Letras distintas indican diferencias significativas al 5% con el test de Tukey.



Figura 24. Panojas de las líneas progenitoras LM Cóndor (Foto LE Cóndor), LP BLS14, la F₁ y las retrocruzadas R₁ y R₂

Análisis de componentes principales de la línea materna LM ACA2000 con la línea paterna LP BLS14, F₁ y retrocruzas, para rendimiento en grano (KGHA), peso de 100 semillas (P100K), porcentaje de marlo (%MARLO), profundidad del grano (TG), longitud de espiga (LE) y número de hileras de granos de la espiga (NH)

Los componentes principales CP1 y CP2 explicaron 80% de la variabilidad de los datos. Se encontró correlación positiva y significativa entre rendimiento (KGHA), profundidad del grano (TG), peso de 100 semillas (P100K) y longitud de espiga (LE). En este sentido, Smith y Smith (1989) encontraron una correlación positiva entre P100K y TG. Por otro lado, KGHA y TG estuvieron correlacionados en forma negativa con %MARLO. Además, se observó que no hubo correlación entre KGHA

y NH. Las variables KGHA, P100K, TG y LE estuvieron asociadas al CP1, mientras que el NH y el %MARLO estuvieron principalmente asociados al CP2 (Tablas 3, 4 y 5). Por lo tanto, en el cuadrante derecho del *biplot* se encontraron los genotipos de mayor KGHA, P100K, TG y LE y en los cuadrantes superiores los genotipos de mayor NH y mayor %MARLO. Se formaron distintos grupos de genotipos: 1) formado por la línea materna LM ACA2000, de menor KGHA, P100K, TG y LE y mayor NH y %MARLO; 2) formado por la línea paterna LP BLS14, de menor KGHA, P100K, TG y LE y menor NH y %MARLO; 3) formado por la F₁, de mayor KGHA, P100K, TG y LE y menor NH y %MARLO y 4) formado por las R₁, con un comportamiento similar o inferior a las F₁ pero con mayor NH y %MARLO. Las retrocruzas R₂ y R₃, se encontraron en el cuadrante derecho (Figura 25).

Tabla 3. Coeficientes de correlación y probabilidad (entre paréntesis) para las variables rendimiento en grano (KGHA), peso de 100 semillas (P100K), porcentaje de marlo (%MARLO), profundidad del grano (TG), longitud de espiga (LE) y número de hileras de granos de la espiga (NH) de las líneas progenitoras LM ACA2000 y LP BLS14, la F₁ y las retrocruzas R₁, R₂ y R₃

	KGHA	P100K	%MARLO	TG	LE	NH
KGHA	1,00					
P100K	0,85 (<0,0001)	1,00				
%MARLO	-0,53 (0,0229)	-0,20 (0,4288)	1,00			
TG	0,82 (<0,0001)	0,77 (0,000)	-0,54 (0,0219)	1,00		
LE	0,64 (0,0040)	0,53 (0,0237)	-0,20 (0,4296)	0,43 (0,0766)	1,00	
NH	0,35 (0,1512)	0,42 (0,0817)	0,20 (0,4212)	0,22 (0,3869)	0,51 (0,0319)	1,00

Tabla 4. Autovalores de los componentes principales (CP) para las variables rendimiento en grano, peso de 100 semillas, porcentaje de marlo, profundidad del grano, longitud de espiga y número de hileras de granos de las líneas progenitoras LM ACA2000 y LP BLS14, la F₁ y las retrocruzas R₁, R₂ y R₃

CP	Valor	Proporción	Proporción acumulada
CP1	3,46	0,58	0,58
CP2	1,36	0,23	0,80
CP3	0,58	0,10	0,90
CP4	0,37	0,06	0,96
CP5	0,17	0,03	0,99
CP6	0,06	0,01	1,00

Tabla 5. Correlaciones de los componentes principales (CP) con las variables originales, autovectores (e1, e2) y correlación cofenética para las variables rendimiento en grano (KGHA), peso de 100 semillas (P100K), porcentaje de marlo (%MARLO), profundidad del grano (TG), longitud de espiga (LE) y número de hileras de granos (NH) de las líneas progenitoras LM ACA2000 y LP BLS14, la F₁ y las retrocruzas R₁, R₂ y R₃

Variable	CP1	CP2	e1	e2
KGHA	0,96	-0,11	0,52	-0,09
P100K	0,88	0,12	0,47	0,10
%MARLO	-0,49	0,75	-0,26	0,65
TG	0,87	-0,27	0,47	-0,23
LE	0,73	0,33	0,39	0,28
NH	0,48	0,76	0,26	0,66

Correlación cofenética= 0,968

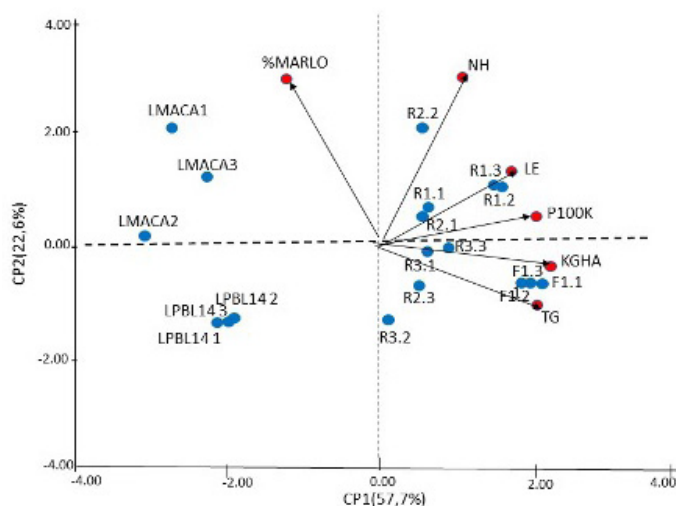


Figura 25. Biplot que resume la relación entre los genotipos y las variables rendimiento en grano (KGHA), peso de 100 semillas (P100K), porcentaje de marlo (% MARLO), profundidad del grano (TG), longitud de espiga (LE) y número de hileras de granos de la espiga (NH) de las líneas progenitoras LM ACA2000 y LP BLS14, la F_1 y las retrocruzas R_1 , R_2 y R_3 (tres repeticiones de cada material)

Análisis de componentes principales de la línea materna LM ACA2000 con la línea paterna LP BLS14, F_1 y retrocruzas para altura de planta (HP), altura de inserción de espiga (HE), longitud de panoja (LP) y número de ramificaciones de la panoja (NRP)

Los resultados mostraron que los componentes principales CP1 y CP2 explicaron 90% de la variabilidad de los datos. Se encontró correlación positiva y significativa entre altura de planta (HP) y altura de inserción de espiga (HE), en coincidencia con Smith y Smith (1989), entre longitud de la panoja (LP) y número de ramificaciones de la panoja (NRP) y, entre NRP y HE. No se detectó correlación entre las variables HP-HE y LP. Las variables HP, HE y NRP estuvieron asociadas en forma positiva al CP1, mientras que LP estuvo más asociada al CP2, también en forma positiva. Por lo tanto, en el cuadrante derecho del biplot se encontraron los genotipos de mayor HP, HE y NRP y en los cuadrantes superiores los de mayor LP (Tablas 6, 7 y 8; Figura 26).

Se formaron distintos grupos de genotipos: 1) la F_1 que tuvo mayor HP, HE, NRP y LP promedio; 2) la línea LP BLS14 y la R_1 , de comportamiento intermedio en relación con las variables HP, HE y NRAMPARO, 3) las R_2 y R_3 de menor HP, HE y NRP pero LP superior al promedio, y, 4) la línea materna LM ACA2000 de menor HP, HE, NRP y LP (excepto la repetición 2) (Tablas 6, 7 y 8; Figura 26).

Análisis de componentes principales de la línea materna LM Cóndor con la línea paterna LP BLS14, F_1 y

retrocruzas para rendimiento en grano (KGHA), peso de 100 semillas (P100K), porcentaje de marlo (%MARLO), profundidad del grano (TG), longitud de espiga (LE) y número de hileras de granos de la espiga (NH)

Los resultados mostraron que los componentes principales CP1 y CP2 explicaron 85% de la variabilidad de los datos. Se encontró correlación significativa entre rendimiento en grano (KGHA) y las siguientes variables, en forma positiva: profundidad del grano (TG) y número de hileras de granos de la espiga (NH), mientras que tanto KGHA como longitud de espiga (LE) estuvieron correlacionados en forma negativa con porcentaje de marlo (%MARLO). Además, se observó correlación positiva y significativa entre TG y peso de 100 semillas (P100K). Las variables: KGHA, TG y NH estuvieron asociadas en forma positiva al CP1, mientras que el P100K estuvo principalmente asociado al CP2, también en forma positiva. Por otro lado, la LE estuvo asociada en forma positiva al CP1 y negativa al CP2 y lo contrario ocurrió con el %MARLO. Por lo tanto, en el cuadrante derecho del biplot se encuentran los genotipos de mayor KGHA, TG, NH y LE y menor %MARLO y en los cuadrantes superiores los genotipos de menor LE y mayor %MARLO. Se formaron distintos grupos de genotipos: 1) formado por las F_1 , R_1 y R_2 , de mayor KGHA, TG, NH y LE y menor %MARLO; 2) formado por la línea paterna LP BLS14, de menor KGHA, TG y NH y de LE y %MARLO intermedio y 3) formado por la línea materna LM Cóndor, de menor KGHA, TG, NH y LE y mayor %MARLO (Tablas 9, 10 y 11; Figura 27).

Análisis de componentes principales de la línea materna LM Cóndor con la línea paterna LP BLS14, F_1 y retrocruzas para altura de planta (HP), altura de inserción de espiga (HE), longitud de panoja (LP), número de ramificaciones de la panoja (NRP)

Los resultados mostraron que los componentes principales CP1 y CP2 explicaron aproximadamente 90% de la variabilidad de los datos. Se encontró correlación positiva y significativa entre altura de planta (HP) y altura de inserción de espiga (HE) y entre longitud de la panoja (LP) y número de ramificaciones de la panoja (NRP). También se observó correlación positiva entre LP y HP-HE.

Las variables: HP, HE y LP estuvieron asociadas en forma positiva al CP1, mientras que NRP estuvo asociada a ambos CP, en forma positiva. Por lo tanto, en el cuadrante derecho del biplot se encuentran los genotipos de mayor HP, HE, LP y NRP y en los cuadrantes superiores los de mayor NRP. Se formaron dos grupos de genotipos: 1) la línea materna LM Cóndor de menor HP, HE, LP y NRP y 2) la F_1 , R_1 , R_2 y la línea paterna LP BLS14

que tuvieron mayor HP, HE, LP y NRP (Tablas 12, 13 y 14; Figura 28).

En el ANEXO 1 se describen la evolución de los segmentos cromosómicos a través de las generaciones de endocría, haciendo uso de las cadenas de Markov, y

el análisis de los estados absorbentes, incorporando el factor de distancia del ligamiento y determinando las frecuencias de acción de los sistemas involucrados, determinando en seis generaciones que los sistemas pueden permanecer en las líneas en cuestión, variando la distancia del ligamiento.

Tabla 6. Coeficientes de correlación y probabilidad (entre paréntesis) para las variables HP, HE, LP, NRP de las líneas progenitoras LM ACA2000 y LP BLS14, la F_1 y las retrocruzas R_1 , R_2 y R_3

	HP	HE	LP	NRP
HP	1,00			
HE	0,95 (<0,0001)	1,00		
LP	0,29 (0,2452)	0,27 (0,2811)	1,00	
NRP	0,60 (0,0086)	0,51 (0,0289)	0,58 (0,0125)	1,00

Tabla 7. Autovalores de los componentes principales (CP) para las variables HP, HE, LP, NRP de las líneas progenitoras LM ACA2000 y LP BLS14, la F_1 y las retrocruzas R_1 , R_2 y R_3

CP	Valor	Proporción	Proporción acumulada
CP1	2,64	0,66	0,66
CP2	0,96	0,24	0,90
CP3	0,36	0,09	0,99
CP4	0,04	0,01	1,00

Tabla 8. Correlaciones de los componentes principales con las variables originales, autovectores (e_1 , e_2) y correlación cofenética para las variables HP, HE, LP, NRP de las líneas progenitoras LM ACA2000 y LP BLS14, la F_1 y las retrocruzas R_1 , R_2 y R_3

Variable	CP1	CP2	e_1	e_2
HP	0,92	-0,37	0,56	-0,38
HE	0,88	-0,42	0,54	-0,42
LP	0,59	0,74	0,36	0,75
NRP	0,82	0,33	0,50	0,34

Correlación cofenética= 0,984

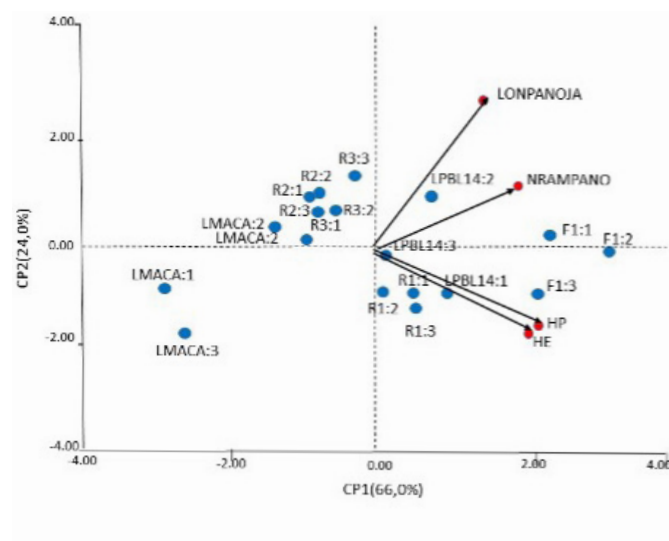


Figura 26. Biplot que resume la relación entre los genotipos y las variables altura de planta (HP), altura de inserción de espiga (HE), longitud de panoja (LONPANOJA), número de ramificaciones de la panoja (NRAMPANO) de las líneas progenitoras LM ACA2000 y LP BLS14, la F_1 y las retrocruzas R_1 , R_2 y R_3 (tres repeticiones de cada material)

Tabla 9. Matriz de correlación y probabilidad (entre paréntesis) para las variables KGHA, P100K, %MARLO, TG, LE, NH de la línea materna LM Cóndor y la línea paterna LP BLS14, la F₁ y las retrocruzas

	KGHA	P100K	%MARLO	TG	LE	NH
KGHA	1,00					
P100K	0,48 (0,0698)	1,00				
%MARLO	-0,55 (0,0348)	0,18 (0,5141)	1,00			
TG	0,76 (0,0009)	0,54 (0,0389)	-0,42 (0,1231)	1,00		
LE	0,41 (0,1338)	-0,26 (0,3413)	-0,85 (<0,0001)	0,37 (0,1775)	1,00	
NH	0,63 (0,0117)	0,42 (0,1217)	-0,48 (0,0696)	0,79 (0,0004)	0,41 (0,1264)	1,00

Tabla 10. Componentes principales (CP) y autovalores para las variables KGHA, P100K, %MARLO, TG, LE, NH de la línea materna LM Cóndor y la línea paterna LP BLS14, la F₁ y las retrocruzas

CP	Valor	Proporción	Proporción acumulada
CP1	3,38	0,56	0,56
CP2	1,72	0,29	0,85
CP3	0,39	0,07	0,92
CP4	0,22	0,04	0,95
CP5	0,18	0,03	0,98
CP6	0,10	0,02	1,00

Tabla 11. Correlaciones de los componentes principales con las variables originales, autovectores (e1, e2) y correlación cofenética para las variables KGHA, P100K, %MARLO, TG, LE, NH de la línea materna LM Cóndor y la línea paterna LP BLS14, la F₁ y las retrocruzas

Variable	CP1	CP2	e1	e2
KGHA	0,87	0,18	0,47	0,13
P100K	0,40	0,85	0,22	0,65
%MARLO	-0,73	0,61	-0,40	0,47
TG	0,88	0,30	0,48	0,23
LE	0,65	-0,69	0,35	-0,53
NH	0,86	0,17	0,47	0,13

Correlación cofenética= 0,970

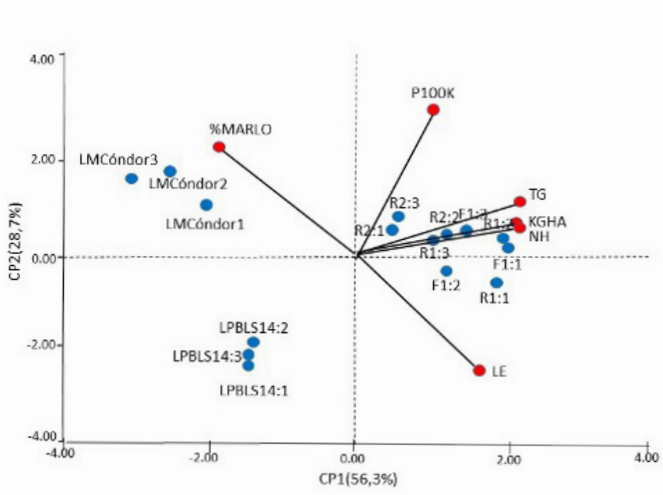


Figura 27. Biplot que resume la relación entre los genotipos y las variables rendimiento en grano (KGHA), peso de 100 semillas (P100K), porcentaje de marlo (% MARLO), profundidad del grano (TG), longitud de espiga (LE) y número de hileras de granos de la espiga (NH) de la línea materna LM Cóndor y la línea paterna LP BLS14, la F₁ y las retrocruzas (tres repeticiones de cada material)

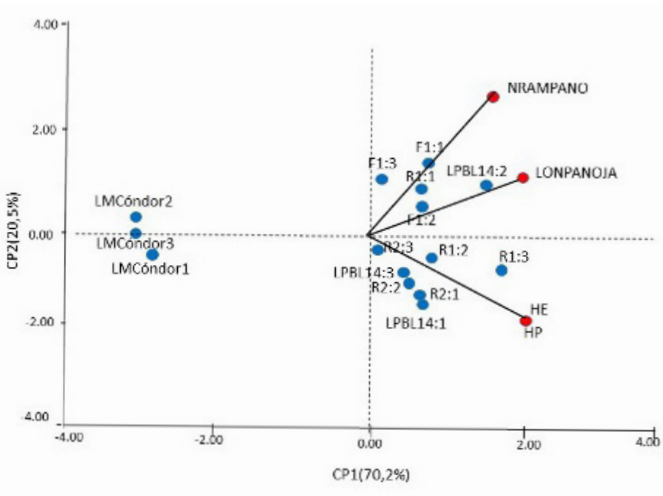


Figura 28. Biplot que resume la relación entre los genotipos y las variables altura de planta (HP), altura de inserción de espiga (HE), longitud de panoja (LONPANOJA), número de ramificaciones de la panoja (NRAMPANO) de la línea materna LM Cóndor y la línea paterna LP BLS14, la F₁ y las retrocruzas (tres repeticiones de cada material)

Tabla 12. Matriz de correlación y probabilidad (entre paréntesis) para las variables HP, HE, LP, NRP de la línea materna LM Cóndor y la línea paterna LP BLS14, la F₁ y las retrocruzas

	HP	HE	LP	NRP
HP	1,00			
HE	0,90 (<0,0001)	1,00		
LP	0,64 (0,0109)	0,61 (0,0168)	1,00	
NRP	0,38 (0,1669)	0,39 (0,1491)	0,67 (0,0065)	1,00

Tabla 13. Componentes principales (CP) y autovalores para las variables HP, HE, LP, NRP de la línea materna LM Cóndor y la línea paterna LP BLS14, la F₁ y las retrocruzas

CP	Valor	Proporción	Proporción acumulada
CP1	2,81	0,70	0,70
CP2	0,82	0,21	0,91
CP3	0,27	0,07	0,98
CP4	0,10	0,02	1,00

Tabla 14. Correlaciones de los componentes principales con las variables originales, autovectores (e1, e2) y correlación cofenética y para las variables HP, HE, LP, NRP de la línea materna LM Cóndor y la línea paterna LP BLS14, la F₁ y las retrocruzas.

Variable	CP1	CP2	e1	e2
HP	0,89	-0,40	0,53	-0,44
HE	0,88	-0,39	0,53	-0,43
LP	0,87	0,28	0,52	0,31
NRP	0,70	0,66	0,42	0,73

Correlación cofenética= 0,983

CONCLUSIONES

- La introgresión de segmentos heteróticos incrementó el rendimiento en grano de las líneas maternas LM ACA2000 y LM Cóndor a mejorar.
- Se observó aumento de la longitud y número de ramificaciones de la panoja en estas líneas a mejorar para la mayor producción de polen.
- En ambas cruzas con la línea LP BLS14 existe correlación entre rendimiento en grano, longitud de la espiga, peso de 100 semillas y profundidad del grano, por un lado y entre longitud y número de ramificaciones de la panoja por otro, lo cual permite aumentar la eficiencia en la evaluación de caracteres.

BIBLIOGRAFÍA

- Ajmone-Marsan P., Monfredini G., Ludwig W.F., Melchinger A.E., Franceschini P., Pagnotto G., Motto M. (1995) In an elite cross of maize a major quantitative trait locus controls one-fourth of the genetic variation for grain yield. *Theor. Appl. Genet.* 90(3): 415-424.
- Allard R.W., Bradshaw A.D. (1964) Implications of genotype-environment interactions in applied plant breeding. *Crop Sci.* 4: 503-508.
- Apirion D., Zohary D. (1961) Chlorophyll lethal in natural populations of the orchard grass (*Dactylis glomerata* L.). *Genetics* 46: 393-399.
- Band H.T. (1963) Genetic structure of populations. II. Viabilities and variances of heterozygotes in constant and fluctuating environments. *Evolution* 17: 307-319.
- Band H.T., Ives P.T. (1961) Correlated changes in environment and lethal frequency in a natural population of *Drosophila melanogaster*. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 47: 180-185.
- Berbecel O., Eftimescu M. (1973) Effect of agrometeorological conditions on maize growth and development. (English translation). P. 10-31. *Inst. Meteorol Hydrology. Bucharest- Romania.*
- Berke T.G., Rocheford T.R. (1999) Quantitative trait loci for tassel traits in maize. *Crop Sci.* 39: 1439-1443.
- Boggio R., Sorarrain O., Salerno J.C., Favret E.A. (1997) Theoretical analysis of lethal factors in plant populations. *Math. Biosci.* 140: 85-99.
- Brandolini A., Brandolini A. (2001) Classification of Italian maize (*Zea mays* L.) germplasm. *Plant Genet. Resour. Newsl.* 126: 1-11.
- Carson H.L. (1967) Permanent heterozygosis. *Evolutionary Biology* 1: 168-193.

- Cockerham C.C. (1954) An extension of the concept of partitioning hereditary variance for analysis of covariance's among relatives when epistasis is present. *Genetics* 39: 859-882.
- Cockerham D.M. (1963) Estimation of genetic variances. In: Hanson W.D., Robinson H.F. (Eds.) *Statistical Genetics and Plant Breeding*. National Academy of Sciences. National Research Council, Washington D.C., pp. 53-54.
- Comstock R.E., Robinson H.F. (1948) The components of genetic variance in populations of biparental progenies and their use in estimating the average degree of dominance. *Biometrics* 4: 254-268.
- Comstock R.E., Robinson H.F. (1952) Estimation of average dominance of genes. In: Gowen J.W. (Ed.) *Heterosis*. ISCPress, USA, pp. 494-516.
- Crow J.F. (1948) Alternative hypotheses of hybrid vigour. *Genetics* 33: 477-487.
- Crow J.F. (1999) Dominance and overdominance. In: Coors J.G., Pandey S. (Eds.) *Genetics and exploitation of heterosis in crops*. Am. Soc. Agron., Crop Sci. Soc. Am., Inc, Madison, Wisconsin, USA, pp. 49-58.
- Crumpacker D.W. (1967) Genetic loads in maize (*Zea mays* L.) and other cross-fertilised plants and animals. *Evol. Biol.* 1: 396-415.
- Duplessis D.P., Dijkhuis F.J. (1967) The inheritance of lag time between pollen shedding and silking on the yield of maize. *S. Afr. J. Agric. Sci.* 10: 667-674.
- Duvick D. (1977) Genetic rates of gain in hybrid maize yields during the past 40 years. *Maydica* 22: 187-196.
- Duvick D. (1999a) Commercial Strategies for Exploitation of heterosis. In: Coors J.G., Pandey S. (Eds.) *Genetics and exploitation of heterosis in crops*. Am. Soc. Agron., Crop Sci. Soc. Am., Inc, Madison, Wisconsin, USA, pp. 295-304.
- Duvick D. (1999b) Heterosis: feeding people and protecting natural resources. In: Lamkey K.R., Staub J.E. (Eds.) *Concepts and breeding of heterosis in crop plants*. Crop Sci. Soc. Am., Madison, Wisconsin, USA, pp. 19-29.
- Duvick D. (2001) Biotechnology in the 1930. The development of hybrid maize. *Nat. Rev. Genet.* 2: 69-74.
- Emerson R.A., Beadle G.W., Fraser A.C. (1935) A summary of linkage studies in maize. Cornell Univ. Agric. Exp. Sta., New York, USA.
- Falconer D.S. (1981) Introduction to quantitative genetics, 2nd edition. Longman Group, London.
- Favret E.A., Godeck W. (1959) Índice de mutación espontánea en cebada y otras gramíneas. *Revista de Investigaciones Agrícolas* 13(3).
- Favret E.A., Ryan G. (1966) Possible use of permanent heterozygosis in barley breeding. *Barley Newsletter* 10: 122-123.
- Fisher R.A. (1928) The possible modifications of the response of the wild-type to recurrent mutations. *Am. Nat.* 62:115-126.
- Freire-Maia N. (1963) Carga genética, o preço da evolução. In: Pavan C., da Cunha A.B. (Eds.) (2^oed.) *Genética*. Companhia Editora Nacional, São Paulo, Brasil. 560 pp.
- Gallais A. (1990) Théorie de la selection en amélioration des plantes. Masson Laris, Madison, Wisconsin, USA.
- Gardner C.O., Eberhart S.A. (1968) Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. *Biometrics* 22: 439-451.
- Geraldi I.O., Miranda Filho J.B., Vencovsky R. (1985) Estimates of genetics parameters for tassel characters in maize (*Zea mays* L.) and breeding perspectives. *Maydica* 30: 1-14.
- Griffing B. (1956) Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian Jour. Biol. Sci.* 9:463-493.
- Gustafsson A. (1946) The effect of heterozygosis on variability and vigour. *Hereditas* 32: 263-286.
- Gustafsson A. (1947) The advantageous of deleterious mutations. *Hereditas* 33: 575.
- Gustafsson A. (1953) The cooperation of genotypes in barley. *Hereditas* 39: 1-18.
- Hallauer A.R., Miranda J.B. (1981) Quantitative genetics in maize breeding. IsuPress, Iowa, USA.
- Hartl D.L. (1980) Principles of population genetics. Sinauer Assoc. Inc., Sunderland, USA.
- Infostat (2004) Infostat/p, versión 2004. Manual del Usuario. Grupo Infostat, FCA, U.N. Córdoba. Primera Edición. Editorial Brujas, Argentina.
- Jones D.F. (1945) Heterosis resulting from degenerative changes. *Genetics* 30: 527-542.
- Jones D.F. (1952) Plasmagenes and chromogenes in heterosis. In: Gowen J.W. (Ed.) *Heterosis*. ISCPress, USA, pp. 224-225.
- Kacser H., Burns J.A. (1981) The molecular basic of dominance. *Genetics* 97: 639-666.
- Kempthorne O. (1954) The correlation between relatives in a random mating population. *Proc. Roy. Soc. London, B.* 143: 103-113.
- Kiesselbach T.A. (1951) A half-century of corn research. *Am. Sci.* 39:629-655.
- Lindstrom E.W. (1920) Chlorophyll factors in maize. Their distribution on the chromosomes and relation to the problem of inbreeding. *J. Heredity* 11: 269-277.
- Lu H., Romero-Severson J., Bernardo R. (2002) Chromosomal regions associated with segregation distortion in maize. *Theor. Appl. Genet.* 105:622-628.
- Lu H., Romero-Severson J., Bernardo R. (2003) Theory basic of heterosis explored by simple sequence repeat markers in a random-mated maize population. *Theor. Appl. Genet.* 107:494-502.
- Luna J.T., Safont Lis J. (1978) El maíz en la Argentina. Vulnerabilidad y recursos genéticos. *Ciencia e investigación*, Tomo 34, No. 3-4-5-6: 83-90.
- Mangelsdorf A.J. (1952) Gene interaction in heterosis. In: Gowen J.W. (Ed.). *Heterosis*. ISCPress, USA, pp. 321-329.
- Mather K., Jinks J.L. (1971). *Biometrical genetics*, 2nd ed. Chapman & Hall, London.
- Mickelson S.M., Stuber C.S., Senior L., Kaeppler S.M. (2002) Quantitative trait loci controlling leaf and tassel trait in a B73xMo17 population of maize. *Crop Sci.* 42: 1902-1909.
- Mock J.J., Schuetz S.H. (1974) Inheritance of tassel branch number in maize. *Crop Sci.* 14: 885-888.
- Muller H.J. (1950) Our load of mutations. *Am. J. Hum. Gen.* 2: 111-176.
- Redei G.P. (1962) Single locus heterosis. *Z. Vererbungsl* 93: 164-170.
- Riman L. (1963) A synoptic survey of maize genes. *Maydica* 8: 99-123.
- Russell W.A. (1991) Genetic improvement of maize yields. *Adv. Agron.* 33:245-298.
- Salerno J.C. (1981) Utilización de los sistemas letales balanceados en maíz. *Acta Jornadas de Genética Aplicada del Noroeste Argentino*. SAG: 43-51.
- Salerno J.C. (1989) Aprovechamiento de los factores letales en el mejoramiento genético. *Bol. Genét.* 15: 67-72.
- Salerno J.C., Díaz D.G. (1992) Un Sistema Letal Balanceado en el Cromosoma 6 de Maíz. *Acta XXIII Congreso Argentino de Genética*, 30 set.- 3 oct. 1992, Pergamino, p. 35.
- Salerno J.C., Favret E.A. (1984) Introduction among lethal genes in two lines of maize (*Zea mays* L.). *Genetics* 107 (1): 93.
- Salerno J.C., Favret E.A. (1994) 17 Años de letales balanceados en maíz. *Mendeliana*. 11(1): 82-85.
- Salerno J.C., Boggio R., Sorarrain O. (1999) Análisis teórico de rendimiento en plantas reguladas por factores letales. *Revista de Agricultura*. Piracicaba. 74(2): 137-156.
- Salerno J.C., Kandus M.V., Boggio Ronceros

- R., Almorza D. (2010) Utilizar regiones heteróticas mantenidas por letales balanceados en el genoma de maíz se hace realidad. BAG. J. Basic Appl. Genet. 21 (2).
- Salerno J.C., Díaz D.G., Robredo C., Boggio R., Sorarrain O. (1998) Explotación de la Carga genética en la producción de semilla híbrida en maíz. IAMFE-Simposio Internacional de Experimentación de la Maquinaria Agrícola, 23-25 de noviembre de 1998, Castelar, Buenos Aires; pp. 256-262.
- Salerno J.C., Díaz D.G., Robredo C., Boggio R., Sorarrain O. (2000) La carga genética en el mejoramiento genético del maíz. Actas del XVIII Reunión Latinoamericana del Maíz. CIMMYT-EMBRAPA, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil; pp: 211-218.
- Salerno J.C., Kandus M., Boggio R., Sorarrain O., Gonzalez C., Almorza D. (2007) Genetics and statistical association between lethal alleles and quantitative yield factors in maize (*Zea mays* L.). BAG. J. Basic Appl. Genet. 18(1): 7-13.
- Salerno J.C., Díaz D.G., Robredo C., Ríos R., Reid A.G., Boggio Ronceros R., Sorarrain O. (1997) Lethal genes associated with grain yield in inbred lines of maize. CIMMYT. Proceeding. The genetics and Exploitation of Heterosis in Crops. ASA-CSSA-CIMMYT, 17-22 August 1997, México; pp. 134-135.
- Schnell F.W. (1963) The covariance between relatives in the presence of linkage. In Hanson W.D., Robinson H.F. (Eds.) Statistical Genetics and Plant Breeding. National Academy of Sci. NRC, Washington D.C., pp: 468-483.
- Schuetz S.H., Mock J.J. (1978) Genetics of tassel branch number in maize and its implications for a selection program for small tassel size. Theor. Appl. Genet. 53: 265-271.
- Shikin I.V. (2003) Introducción a la Teoría de Juegos. Editorial URSS, Moscú, Rusia.
- Smith O.S. (1989) The description and assessment of distances between inbred lines of maize. II: The utility of morphological biochemical, and genetic descriptors and a scheme for the testing of distinctiveness between inbred lines. Maydica 34 (2): 151-161.
- Stuber C.W. (1994) Heterosis in plant breeding. Plant Breed. Rev. 12: 227-251.
- Stuber C.W., Lincoln S.E., Wolff D.W., Helentjaris T., Lander E.S. (1992) Identification of genetic factors contributing to Heterosis in a hybrid from two elite maize inbred lines using molecular markers. Genetics 132: 823-839.
- Vencovsky R., Barriga P. (1992) Genética biométrica no fitomelhoramento. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, Brasil.
- Wallace B. (1970) Genetic load. Its Biological and Conceptual Aspects. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, N.J. Chapter 8: 52 pp.
- Weijer J. (1952) A catalogue of genetic maize types together with a maize bibliography. Bibl. Genetics 50: 294.
- Whaley W. (1964) Physiology of gene action in hybrids. In: Gowen J.W. (Ed.) Heterosis. Hafner, N.Y., pp. 98-115.
- Wright S. (1968) Evolution and the Genetics of Populations. Vol 1. Genetic and Biometric Foundations. The University of Chicago Press, Chicago, EE.UU.
- Wright S. (1978) Evolution and the Genetics of Populations. Vol 4. Variability Within and Among Natural Populations. The University of Chicago Press, Chicago, EE.UU.

HISTORIA Y PERSPECTIVAS DEL MEJORAMIENTO GENÉTICO DEL MAÍZ FORRAJERO EN LA ARGENTINA



HISTORY AND PROSPECTS OF FODDER CORN BREEDING IN ARGENTINA

Rimieri P.

¹Ex Investigador INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) Argentina; Asesor científico en fitomejoramiento y obtentor de cultivares

Corresponding author:

Pedro Rimieri

primieri730@gmail.com

 ORCID 0000-0002-6291-8998

Cite this article as:

Rimieri P. 2023. HISTORY AND PROSPECTS OF FODDER CORN BREEDING IN ARGENTINA. BAG. Journal of Basic and Applied Genetics XXXIV (1): 31-39.

Received: 06/09/2023

Accepted: 06/30/2023

General Editor: Elsa Camadro

DOI: 10.35407/bag.2023.34.01.06

ISSN online version: 1852-6233

ABSTRACT

Corn is used to massively produce food for humans and domestic animals with grains of various taxonomic entities or races. For domestic ruminants, the whole plant is also used as forage. In Argentina, both corn grain and whole-plant silage are used for beef and dairy cattle production. This paper aimed to develop the history and perspectives of corn grown for grain and silage, focusing on plant breeding. The importance of corn fodder in its two variants (grain and whole-plant silage) has varied over time. We emphasize herein the importance of the specific genetic breeding of corn used for whole-plant silage to achieve higher yield potential and nutritional value than grain hybrids. The four population genetic structures used over time as cultivars, which determined the evolution of the technological process of selection and breeding, were analyzed. Based on the research carried out, seed companies have incorporated our protocols into their development and breeding programs. The contribution of selection and breeding in Argentina was effective in transforming the corn plant into ruminant feed, and this will increase with the development of specific silage hybrids.

Key words: cultivars, corn fodder, plant breeding.

RESUMEN

El maíz se utiliza masivamente para producir alimentos para el hombre y los animales domésticos con granos de varias entidades taxonómicas o razas. Para los rumiantes domésticos también se utiliza la planta entera como forraje. En Argentina se utiliza el grano forrajero y el silaje de planta entera para el ganado vacuno de carne y leche. El objetivo de este trabajo fue desarrollar la historia y las perspectivas del maíz para grano y ensilaje, centrados en la selección y el mejoramiento genético. El maíz forrajero en sus dos variantes (grano forrajero y planta entera como silaje) tuvo distinta importancia a través del tiempo. Remarcamos la importancia del mejoramiento genético específico del maíz para silaje de planta entera para alcanzar un potencial de rendimiento y valor nutritivo superior a la de los híbridos graníferos. Se analizaron las cuatro estructuras genéticas poblacionales utilizadas en el tiempo como cultivares, que determinaron la evolución del proceso tecnológico de selección y mejoramiento genético. Con las investigaciones efectuadas, las empresas semilleras incorporaron nuestros protocolos a sus programas de desarrollo y de mejoramiento genético. La contribución de la selección y del mejoramiento genético en Argentina fue efectiva para transformar la planta de maíz en alimento para rumiantes y esto se incrementará con la obtención de híbridos específicos para silaje.

Palabras clave: cultivares, maíz forrajero, mejoramiento genético.

INTRODUCCIÓN

El maíz, como planta cultivada, es una de las tres especies más importantes en el mundo junto al arroz y al trigo. Produce masivamente, alimentos para el hombre y los animales domésticos, con la mazorca y con el grano de varias entidades taxonómicas o razas. Para los rumiantes domésticos también se utiliza la planta entera como forraje, picada como ensilaje.

Es una de las especies más eficientes en el uso del agua (kg MS ha^{-1}). Ha sido y es una de las especies más estudiadas genéticamente y con más posibilidades para desarrollar innovaciones biotecnológicas. Los criterios de selección se centraron históricamente en la producción de grano, tanto para el grano forrajero como para el maíz dulce hortícola. Con el pisingallo y el industrial ceroso, forman los cuatro tipos comerciales más importantes en Argentina. El grano forrajero deriva de germoplasma de las subespecies *indurata* e *indentata*, el hortícola de la subesp. *saccharata*, el pisingallo de la subesp. *evarta* y el ceroso de la subesp. *ceratina*.

Si bien el maíz es un *commodity* exportable, el 75% del consumo interno del grano de maíz cosechado en Argentina es para la producción animal como grano forrajero: de ese 75% (más de 12×10^6 tn), el ganado vacuno de carne y leche consume el 52%, las aves (carne y huevos) el 36% y los cerdos el 12% (BCR, 2020). Esto demuestra la importancia del maíz en nuestro país para la producción animal, que será aún mayor en el futuro en cualquiera de las tres especies animales mencionadas, y en especial para los rumiantes (Figura 1). A esa utilización del grano de maíz para la producción

animal, hay que sumarle alrededor de $1,3 \times 10^6$ ha de maíz picado y ensilado para vacunos de carne y leche (Cámara Argentina de Contratistas Forrajeros (CACF), 2023), que estimativamente contendrían $8,7 \times 10^6$ tn de grano.

El 25% restante de grano de maíz para consumo interno es para la industria. La molienda seca se realiza para polenta y derivados y la molienda húmeda, para fructosa, almidones y *gluten feed*. El *gluten feed* es, además, utilizado mayoritariamente para producción animal como concentrado proteico (Bolsa de Comercio de Rosario, 2020).

Desarrollaremos, en esta entrega, lo relacionado al maíz forrajero en particular: a) como grano forrajero y b) como ensilaje. Nos concentraremos en los objetivos, criterios y métodos de selección utilizados en el mejoramiento genético. Históricamente, las variables agronómicas principales consideraron el aumento de rendimiento de grano, la adaptación, la estabilidad y el perfil sanitario. Ese largo proceso se inició con la selección de poblaciones hasta diseñar y obtener los cultivares híbridos de la segunda mitad del siglo XX. La etapa más reciente del mejoramiento se complementó con tecnologías biotecnológicas (trans y cis) en los cultivares híbridos más modernos. Expondremos y compararemos los métodos de selección asociados a las estructuras genéticas involucradas, que en general son similares en los cuatro tipos comerciales mencionados. Abarcaremos el desarrollo y la evolución del maíz forrajero, desde 1889 hasta la actualidad, centrados en el germoplasma del género *Zea* y en el avance genético por selección.



Figura 1. Consumo animal del grano de maíz en cuatro especies domésticas. Bolsa de Cereales de Rosario, Argentina (BCR, 2020).

LA ESPECIE

Planta de la familia de las Gramíneas (Poaceae) que evolucionó con el hombre, desde una estructura común al resto de la familia, pero sin dejar rastros de sus ancestros, hasta llegar a una planta con el órgano femenino monstruoso, botánicamente llamado mazorca o espiga. Lo más notable de ese cambio se dio en el raquis de la espiga, llamado marlo y en la cariósida, muy desarrollada por fuera de las glumas (formas «desnudas»), al evolucionar del carácter lignificado y duro de las mismas en sus ancestros. Las glumelas, tanto en la panoja como en la espiga, son hialinas y muy reducidas.

Taxonomía:

Clase: Monocotyledonae

Orden: Cyperales

Familia: Poaceae

Nombre científico: *Zea mays*

Nombre común: Maíz

Características morfológicas

Planta anual de 1,5-3 m de alto. Tallos gruesos (>15 mm), macizos. Hojas anchas (2-10 cm), con nervio central marcado. Es una planta diclino-monoica. La inflorescencia masculina es una panoja laxa y apical, mientras que la inflorescencia femenina, es una espiga compuesta y axilar, cubierta por brácteas foliáceas conocidas comúnmente como chala. Las espiguillas de la panoja están formadas por dos glumas papiráceas que encierran dos antecios. Las flores femeninas se disponen de a dos por espiguilla (una de ellas estéril), lemma y pálea muy reducidas; espiguillas sentadas sobre el marlo, glumas reducidas. Los estilos son de gran longitud, expuestos, por fuera de la parte apical de la mazorca, formando la cabellera. El fruto es una cariósida (Parodi y Dimitri, 1964; Dimitri y Parodi, 1988).

PRODUCCIÓN Y UTILIZACIÓN

El maíz acompañó a la ganadería argentina desde fines del siglo XIX. Al grano de maíz se lo denomina grano forrajero. El maíz forrajero en sus dos variantes (grano forrajero y planta entera como silaje) tuvo distinta importancia a través de los últimos 100 años, con una política ganadera de carne y leche variable y poco tecnificada en la mayor parte de ese período.

En la Argentina, desde el siglo XIX, La Martona, en Vicente Casares, Bs. As., disponía de 52 tambos con silos aéreos de material, para ensilar pasturas y maíz (Figura 2). La Martona, fundada por Vicente Casares en 1889, precursora de la industria lechera en la Argentina, tenía modernos equipos adquiridos en la Exposición Universal de París de esa época. El ensilaje como se realizaba en La



Figura 2. Silo aéreo de ladrillos (1889), La Martona, Vicente Casares, Buenos Aires (www.infocanuelas.com)

Martona tuvo su origen en Francia en donde M. Auguste Goffart lo implementó. Sus informes fueron utilizados para introducir el proceso en Estados Unidos alrededor de 1875 y en Argentina en 1889 (Dilkes, 1953a, 1953b, 1953c).

El proceso del ensilaje tiene un inicio incierto. Fue el profesor John Symonds de la Universidad de Cambridge, en 1786, quien refirió en los anales de la Universidad de Agricultura de Young, que en Italia se usaban hojas almacenadas en barriles o en fosas para alimentar el ganado en invierno, donde se comprimían fuertemente y cubrían con paja, arena y arcilla. Por consiguiente, la práctica de ensilar forrajes sería originaria de Italia, donde habían entendido los principios de la conservación de los forrajes en silos (Breitigniere y Kahtchadourian, 1962).

El *ensilado* es un proceso de conservación del forraje basado en una fermentación láctica del pasto que produce ácido láctico y una disminución del pH por debajo de 5. Ensilar (sin. ensilaje, ensilado): se refiere al proceso de picar una planta entera, transportarla hasta el silo, compactar y tapar o cerrar. El agregado suplementario de inoculantes, granos, o cualquier otro producto en el

proceso, deberá ser considerado como parte del mismo. El término *ensilado*, además de asociarse al proceso también se lo utiliza como adjetivo. Ejemplo: maíz ensilado.

El *silaje* es el producto (el forraje fermentado listo para suministrar a los rumiantes) que se ha hecho fermentar en un recipiente (silo) que mantuvo la anaerobiosis. Frecuentemente se lo denomina también ensilaje o ensilado y es aceptada esa denominación si se está haciendo referencia al producto (forraje fermentado). El proceso de ensilado se aplica tanto a las gramíneas forrajeras como al maíz y, eventualmente, a subproductos alimenticios como la pulpa de remolacha, los bagazos de cerveza, etc. El maíz, por sus granos y sus tallos prominentes para una gramínea, tiene la combinación perfecta de fibras y azúcares para la fermentación con calidad y excelente conservación.

El *silo* es el recipiente que contiene a la planta picada y compactada en condiciones anaeróbicas. Puede ser un silo aéreo de material, como se utilizaban a principios del siglo XX y que aún persisten, como los de La Martona (ya descripto), un silo puente semipermanente, con piso y paredes laterales o, el más reciente, el silo bolsa, un sistema de almacenamiento temporario, potencialmente hermético, o simplemente, un tubo de polietileno coextruido multicapa de 152 a 427 cm de diámetro y de varios metros de largo.

El silaje es la forma más segura de conservar forraje por largo tiempo con un bajo costo financiero. Ya que el silaje requiere gran cantidad de energía fósil convencional para picarlo, trasladarlo, compactarlo y distribuirlo, el objetivo será siempre obtener la mayor cantidad de materia seca (MS) posible con la mayor calidad posible. En maíz, considerando a la planta entera como forraje, una mayor producción de mayor calidad dará como resultado mayor cantidad de MS digestible por unidad de superficie y el costo energético mencionado se diluirá por kg de MS o de MS digestible. De ahí la importancia del mejoramiento genético específico del maíz para silaje de planta entera para alcanzar un potencial de rendimiento y calidad superior al logrado con híbridos graníferos, aun en suelos agrícolas (Rimieri, 2008). Como veremos más adelante, ese mejoramiento específico considerando a la planta entera y a la estructura y digestibilidad del tallo, no prosperó ni en Argentina ni en otros países, excepto en Europa, principalmente en Francia y Holanda, abarcando desde el germoplasma hasta la obtención de híbridos con proyectos público-privados (Gallais y Pollacsek, 1975; Deinum y Bakker, 1981; Rimieri, 1990). Hay dos razones por las que esa selección específica está postergada: 1) el maíz en general es la especie mejor adaptada para el silaje, independientemente del tipo comercial; 2) los cultivares desarrollados para producir grano forrajero, han tenido una ganancia genética muy elevada para rendimiento por selección y superior a la de otros cereales. La planta entera, en general, por el vigor

híbrido y por la estructura y fisiología para sostener, acumular y translocar fotosintatos, acompañó esa ganancia en rendimiento.

Desde el siglo XIX y durante todo el siglo XX, en nuestro país dominaban los sistemas pastoriles extensivos que normalmente utilizaban al grano forrajero en suplementación estacional y sin un manejo ganadero integral. Al grano de maíz, históricamente y mayoritariamente, se lo utilizó como suplemento en épocas de sequías e inundaciones, pero también para cubrir las deficiencias en el manejo de los pastizales y de las pasturas cultivadas.

En los tambos, en la segunda mitad del siglo XX, comenzaron a reutilizarse los silajes de maíz de planta entera picada, como en La Martona en 1889. Esos silajes se realizaban en los llamados silos puente, al principio bajo la denominación de reservas forrajeras. Debido a los avances en el picado y en la compactación, los forrajes conservados como silaje crecieron y se difundieron desde el Río Colorado hasta el norte. Actualmente el silo es de dos tipos: 1) el silo puente y 2) el silo bolsa.

Ese forraje conservado como silaje, es un alimento energético insustituible que tiene una digestibilidad potencial del 68% para rumiantes y, además, es más equilibrado, ya que garantiza un medio ruminal más apto para la fermentación (Figura 3) (Rimieri, 2011). En la dieta de un rumiante, la falta de fibra con exceso de grano produce acidosis ruminal que afecta al bienestar animal y a la eficiencia y sustentabilidad del sistema productivo. Y por ello, el silaje es imprescindible e insustituible.

HISTORIA DEL MEJORAMIENTO EN LA ARGENTINA

El grano forrajero de maíz, desde los inicios en 1889, provenía de las poblaciones coloradas tradicionales introducidas por los colonos europeos y de las variedades locales. Muchas de esas poblaciones en el estado original o cruzadas con los maíces que ya existían en la Argentina, incluidos los de las razas del NOA y del NEA, son las que actualmente denominamos *landraces* o variedades locales o criollas. El desarrollo para producir variedades cultivadas fue iniciado por el Ing. Agr. Enrique Klein, fundador del Criadero Klein, que había llegado de Alemania al Uruguay en 1913, bajo contrato para trabajar en la Estación Experimental La Estanzuela, y que tres años después se estableció en la Argentina. Aquí instaló su propio criadero de semillas y logró obtener en 1923 cuatro variedades de maíz de polinización libre. Con el tiempo, “Colorado Klein” fue la variedad comercial referente de los maíces “colorados duros” (o *Flint*) de polinización libre o abierta. Todavía no se había desarrollado la tecnología para aprovechar el vigor híbrido mediante híbridos F_1 por cruzamiento

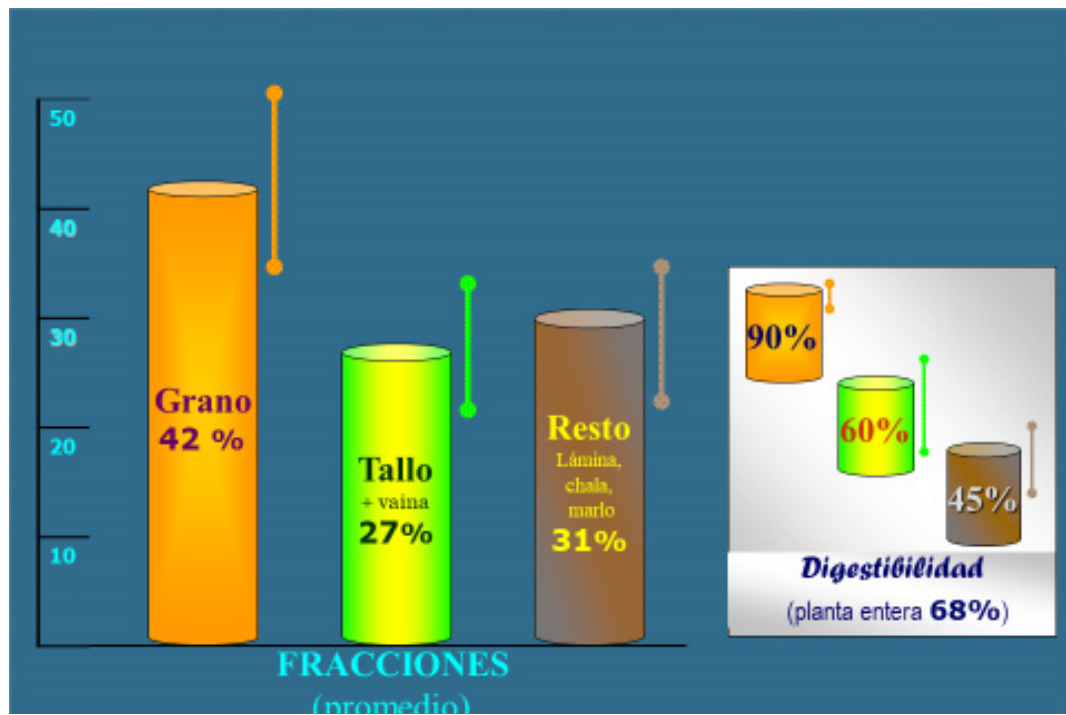


Figura 3. Proporción y digestibilidad de las tres fracciones morfológicas principales del maíz para silaje (Rimieri, 2011).

controlado de líneas endocriadas, que describiremos en el siguiente párrafo.

CULTIVARES

Como mencionamos en el párrafo anterior, Colorado Klein fue la variedad comercial referente de los maíces colorados duro de polinización libre o abierta. Posteriormente, otras variedades como Colorado Manfredi MAG, Colorado La Holandesa, Leales 25, Pitagua INTA, Morocho INTA, Don Faustino INTA, Amarillo Precoz De Simoni, entre otras, estuvieron en el mercado aun con la difusión de los primeros híbridos dobles. Lentamente fueron reemplazadas por los híbridos. Actualmente, algunas variedades derivadas de las mencionadas están presentes con menor participación y en nichos especiales del mercado. No presentaremos un listado de los cultivares inscriptos, que se puede consultar en el Catálogo Nacional de Cultivares actualizado (INASE, 2023).

Con respecto a los híbridos, ya sea en el proceso de generar líneas endocriadas y aprovechar el fenómeno de la heterosis, como en el de desarrollar híbridos, nos tenemos que remontar a la década de 1930 en el Instituto Fitotécnico de Santa Catalina (IFSC). Allí, el doctor Salomón Horovitz comenzaba a desarrollar la genética y la fitotecnia y a trabajar en los procesos de hibridación de maíz, obteniendo las primeras líneas

endocriadas (Mazoti y Hunziker, 1976; Calvelo, 2000; Vessuri, 2003). Recién en 1945 Antonio Marino y Tomás Luna lograron los primeros híbridos de maíz en la Estación Experimental Ángel Gallardo, en Santa Fe. Eran discípulos de Horovitz, al igual que Luis B. Mazoti y Juan Carlos Rossi, genetista y mejorador de maíz respectivamente, que iniciaron en forma aventurera la generación de invierno de maíz en Formosa desde el actual Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA), de Castelar, en ese entonces del Ministerio de Agricultura y Ganadería de la Nación. En 1951, en la Estación Agronómica Central de Pergamino, Raúl Abalo y Juan Etchecopar obtuvieron los cultivares Pergamino N° 1 MAG y Pergamino N° 2 MAG. Este último alcanzó una gran difusión por su rendimiento y buena calidad de grano, tipo piamontés. Los cultivares Santa Fe 3 y Pergamino N° 2 MAG fueron los primeros híbridos comerciales difundidos. Al poco tiempo se instalaron Cargill, Morgan y Dekalb, en ese momento las compañías más importantes en producción de maíz híbrido. En Francia, recién en la segunda postguerra se inició el desarrollo de híbridos de maíz. El Instituto Nacional de la Investigación Agronómica (INRA), en 1957, inscribió en el registro de variedades el primer híbrido, INRA 200, y al año siguiente INRA 258, ambos híbridos súper precoces comparados con los denominados ciclo completo sembrados en el centro y norte de Argentina. Es de hacer notar que en Francia los híbridos se desarrollaron después que los nuestros de las Estaciones

Ángel Gallardo y Pergamino. En 1960 y 1961, Juan Carlos Rossi y Fulvio Petri registraron los híbridos Pergamino Pitá S.A.G. y Pergamino Guazú S.A.G., respectivamente. Y en 1963, el híbrido Abatí INTA 1, de buen rendimiento, colorado duro, valorado comercialmente (Calvelo, 2000; Gallo Candolo, 2022). En esa época había un reemplazo lento de las variedades de polinización libre por los híbridos dobles F_1 (combinación de cuatro líneas endocriadas paternas en dos híbridos simples, uno ♀ y otro ♂ o polinizador, que por hibridación generan en el híbrido ♀ la F_1 comercial). Al mismo tiempo se fueron instalando las otras empresas semilleras que desarrollaban híbridos de maíz y al final de ese largo período que hemos descripto, se obtuvieron los híbridos de tres líneas endocriadas (o triples, por la combinación de un híbrido simple ♀ con una línea ♂) que se sumaron a los dobles en la oferta comercial. Gradualmente, ambos tipos de híbridos fueron reemplazados por los híbridos simples (cruzamiento entre 2 líneas endocriadas que generan la F_1), que actualmente dominan la oferta varietal comercial en maíz. Comercialmente, desde las primeras variedades desarrolladas, se sembraron cuatro estructuras genéticas poblacionales definidas: 1) poblaciones de selección masal sin control de la polinización o variedades de polinización libre; 2) híbridos dobles de cuatro líneas endocriadas cruzando dos híbridos simples para aumentar y abaratar el costo de la semilla híbrida (F_1 o cultivar híbrido); 3) híbridos de tres líneas, población más homogénea con un híbrido simple ♀ como en el híbrido doble para abaratar costos de la semilla; 4) híbrido simple, como en otras especies, ej. tomate, producto del cruzamiento de dos líneas endocriadas vigorosas, en especial la línea ♀ para lograr mayor potencial de rendimiento y un cultivo más homogéneo.

Todo lo mencionado y descripto hasta aquí como evolución del proceso tecnológico de selección y mejoramiento genético, estuvo referido al “maíz grano” (grano forrajero).

A continuación, se desarrollará el maíz forrajero, como planta entera para silaje para los sistemas ganaderos de Argentina.

MAÍZ PARA SILAJE EN GANADERÍA

La planta de maíz ha sido estudiada y mejorada atendiendo preferentemente su productividad en grano (Barrière *et al.*, 2006). La escasa información bibliográfica disponible demuestra que la fracción vegetativa (caña y hojas) fue considerada sólo como un medio para maximizar el rendimiento de grano sin poner énfasis en su calidad nutricional (Dhillon *et al.*, 1990; Pedersen, 1996; Barrière *et al.*, 2006). De este modo, se incrementó el contenido energético del ensilaje, ya

que la espiga constituye el principal aporte al total de nutrientes digestibles del maíz. Por esta razón, por un extenso período de tiempo se consideró al mejor híbrido granífero como el mejor híbrido forrajero. Los criterios de selección de maíz para silaje, siempre giraron alrededor del contenido de grano y del rendimiento y calidad del silaje obtenido (Bunting, 1975; Pinter, 1986; Carrete *et al.*, 2000; Alessandro, 2002).

En la década del '90 del siglo pasado, en Argentina, los forrajes conservados, particularmente los silajes, fueron creciendo en cantidad y calidad. Principalmente, el silaje de maíz se convirtió en el suplemento del pastoreo nutricionalmente energético más importante para la producción ganadera y también de las dietas para vacas lecheras y novillos para carne con engorde a corral. El maíz como planta forrajera para rumiantes, en los 100 años previos, consistió en la utilización generalizada de los rastrojos del cultivo después de cosechado y el maíz diferido en pie sin cosechar, mientras que la planta entera para silaje de algún granífero comercial estuvo circunscripta a algunos tambos, especialmente bajo la asistencia técnica a productores tamberos. A 100 años del emprendimiento de La Martona, en Vicente Casares (Bs. As.), en Luján-Gral. Rodríguez (Bs. As.) se fue ensayando un proyecto privado de desarrollo rural para productores tamberos, a cargo de Luis Marcenaro y César Fraga, que fue implementado desde el año 1978 por la empresa Mastellone Hnos. (Universidad Nacional de La Plata, 2014).

Las diferencias observadas entre híbridos comerciales tanto en la calidad nutricional y la proporción de los distintos componentes morfológicos, como en sus cualidades agronómicas, determinaron la necesidad de identificar a los híbridos graníferos locales de mejor comportamiento, hasta tanto no hubiera selección de germoplasma específico. Para la obtención de líneas endocriadas para híbridos específicos para ensilaje, en Europa, vieron tempranamente las posibilidades de seleccionar al maíz como planta forrajera (Gallais y Pollacsek, 1975). En Argentina, las investigaciones y desarrollos que involucraran diferentes aspectos del germoplasma, del ensilado y del silaje de maíz, fueron desarrolladas en el ámbito de la Universidad Nacional de Lomas de Zamora (UNLZ), con el grupo del Prof. Ing. Agr. Dr. Luis Bertoia y en la EEA Pergamino INTA con el grupo del autor de este artículo. Ambos grupos, desarrollaron las investigaciones, los protocolos y las evaluaciones que fueron incorporando las empresas obtentoras de híbridos a sus programas de desarrollo y de mejoramiento genético. Esta identificación, evaluación y utilización de esos híbridos permitió, desde 1990, que se ensilaran paulatinamente los híbridos graníferos de mayor producción y calidad de MS aportada por los componentes morfológicos de la planta entera. Se desarrolló una estrategia complementaria entre la UNLZ y el INTA Pergamino, basada en el

germoplasma, sus líneas derivadas y los genotipos experimentales (híbridos), para evaluar y estructurar la variabilidad entre poblaciones y probadores (*Top cross*) complementarios, para la producción de forraje de planta entera, considerando los objetivos y los criterios de selección para el germoplasma local. Esas diferentes estructuras genéticas fueron evaluadas considerando: 1) distintas densidades de plantas y manejo del cultivo; 2) las características fisiológicas en acumulación y translocación de fotosintatos en líneas endocriadas e híbridos; 3) los protocolos en el proceso de picado, confección del silo y fermentación anaeróbica de los componentes morfológicos, mediante microsilos y 4) el valor nutritivo *in vitro* e *in situ* de los componentes morfológicos de poblaciones, líneas endocriadas e híbridos experimentales y comerciales. (Rimieri, 1990; Reynoso y Rimieri, 1994; Reynoso, 1996; Scheneiter *et al.*, 1996; Rojas, 1999; Bertoia *et al.*, 2000; Alessandro, 2002; García Stepien, 2012; Scheneiter *et al.*, 2011; Ferrand *et al.*, 2012; Bertoia, 2012; Incognito, 2019; Rimieri, 2021). Este proceso y la estrategia utilizada es un buen ejemplo de aplicación de los criterios de selección *a posteriori* para los híbridos experimentales y comerciales y *a priori* para las poblaciones y líneas endocriadas del germoplasma base de selección.

Mientras se desarrollaban las investigaciones mencionadas en el párrafo anterior, el criadero Morgan inscribió el híbrido Morgan 369 o M 369, con germoplasma de origen sudafricano, de ciclo vegetativo, estructura de la planta y partición de la MS diferente a los híbridos colorados que dominaban el mercado. Era un maíz blanco, con una estructura de planta por que la empresa obtentora lo difundió al mercado como híbrido silero. Al poco tiempo de ofrecerlo en el mercado, se observaron características morfofisiológicas de producción y de calidad de mejor comportamiento para ensilar. Se mantuvo en el mercado durante 20 años (inscripto en 1991 y retirado del mercado en 2011). En ese mismo período se inscribieron varios híbridos graníferos con alguna característica relacionada al silaje, con palabras y prefijos en sus nombres haciendo mención al silaje o al forraje (S, tambero, sil, energía, forrajero, etc). La mayoría de esos híbridos respondían más al *marketing* de la empresa semillera que a características sileras comprobables, como en M369. Sólo unos pocos híbridos comerciales, con mejor aptitud para silaje, acompañaron el avance genético del mejoramiento para grano. Se detectaron híbridos graníferos mejor adaptados para silaje de planta entera (Rimieri, 2011). Mientras no se generaban híbridos específicos para ensilaje, una alternativa se basó en mejorar la calidad forrajera mediante el gen *bm3*, que disminuye el contenido de lignina del tallo de maíz y lo hace más digestible. Las plantas de maíz con el gen *bm3*, gen recesivo de una mutación natural encontrada en

1924 en Minnesota, tienen hojas con nervadura central parda. El efecto drástico en la cantidad y calidad de la lignina asociado a este gen fue determinado 40 años después de su descubrimiento (Barrière y Argillier, 1993). Los híbridos comerciales con este mutante aún no tienen una gran difusión por los efectos deletéreos del gen *bm3* observados en los primeros cultivares. Comercialmente, a los cultivares con este gen se los conoce como BMR (por *Brown Mid Rib*) o nervadura parda o nervadura marrón. Los genes *bm1*, *bm2*, *bm3* y *bm4* tienen expresión diferencial de fenilpropanoide en relación con la biosíntesis de lignina (Guillaumie *et al.*, 2007).

La Cámara Argentina de Contratistas Forrajeros (CACF) se formó para lograr la disponibilidad de maquinaria y tecnología para el picado del maíz y la confección del silo en tiempo y forma en los campos de productores de carne y leche, generando información de los campos de productores, complementaria a la generada en la UNLZ y en INTA Pergamino. Con la CACF se logró, desde 2003, que los ensilados de forrajes llegaran gradualmente a todos los sectores de la producción ganadera del país, logrando una capacidad de picado y confección para más de 2×10^6 ha de forrajes anuales, de las cuales $1,3 \times 10^6$ ha, como ya se mencionó, corresponden a maíz para ensilado (CACF, 2023).

Así como ya describimos la evolución del proceso tecnológico del mejoramiento genético, que estuvo referido al maíz para grano, sería deseable que, en este siglo, se consolide lo mencionado sobre los avances y logros desde el INTA, la Universidad y la CACF y se plasme en un compromiso concreto de los criaderos y semilleros de maíz para desarrollar híbridos específicos para silaje. La Asociación MAIZAR, que representa a la cadena del maíz en Argentina, debería sumarse en este aspecto. Actualmente se dispone de tecnologías del mejoramiento genético con criterios de selección complejos y específicos para silaje, está definido el tipo ideal de maíz para silaje y sólo resta que se plasme en la generación de nuevos híbridos específicos (Figura 4) (Rimieri, 2011).

Sintetizando, esta reseña histórica de más de 100 años de selección y evolución del mejoramiento genético del maíz forrajero se inspiró en un libro concerniente a la agronomía y mejoramiento genético de plantas, realizado en Francia para 50 especies vegetales (Doré y Varoquaux, 2006). Se expuso en esta entrega el aporte de la selección y del mejoramiento genético de maíz, cultivo multifacético, eficiente y de gran importancia nacional y global, en la transformación de la planta en alimento para animales domésticos, más específicamente para rumiantes. Por otra parte, en el mismo período, también el mejoramiento genético animal aumentó la eficiencia de transformación del alimento en carne, leche y huevos.

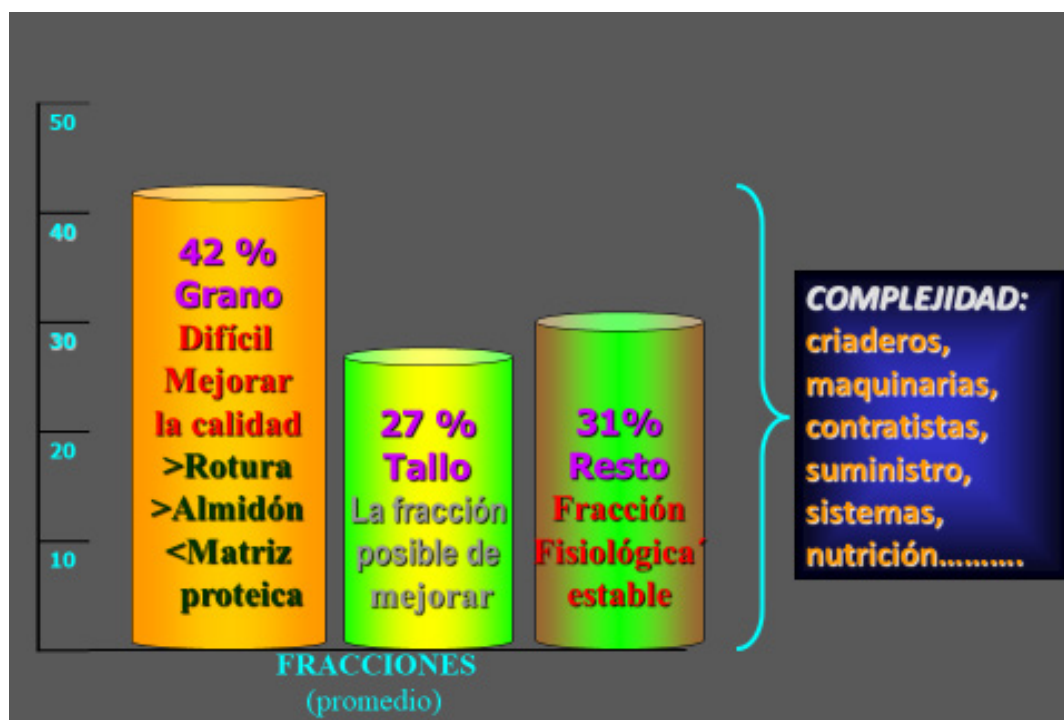


Figura 4. Criterios de selección y tendencias en la generación y utilización del maíz para silaje (Rimieri, 2011).

BIBLIOGRAFÍA

- Alessandro M.S. (2002) Variabilidad y parámetros genéticos en caracteres morfofisiológicos de maíz (*Zea mays* L.) para silaje. Tesis de Postgrado. Curso de Postgrado en Mejoramiento Genético Vegetal. Universidad Nacional de Rosario, Argentina.
- Barrière Y., Argillier O. (1993) Brown-midrib genes of maize: a review. *Agronomie*, 13(10): 865-876.
- Barrière Y., Alber D., Dolstra O., Lapierre C., Motto M., Ordas A., van Waes J., Vlaswinkel L., Welcker C., Monod J.P. (2006) Past and prospects of forage maize breeding in Europe. II. History, germplasm evolution and correlative agronomic changes. *Maydica*, 51: 435-449.
- Bolsa de Comercio de Rosario (2020) Aproximaciones al consumo de maíz en Argentina. <https://www.bcr.com.ar/es/mercados/investigacion-y-desarrollo/informativo-semanal/noticias-informativo-semanal/aproximaciones>. (acceso: 3 de mayo de 2023)
- Bertoia L.M. (2012) Análisis de la interacción genotipo-ambiental de la aptitud forrajera en maíz (*Zea mays* L.). Tesis Doctoral, Universidad Nacional de La Plata, La Plata.
- Bertoia L.M., Arturi M.J., Cantet R.J.C. (2000) Evaluación de la aptitud forrajera de probadores graníferos mediante compuestos de maíz (*Zea mays* L.) con distintos niveles de selección. Tesis de *Magister Scientiae*, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.
- Bretigniere L., Khatchadourian L. (1962) Ensilado de forraje verde. Editorial Aguilar, Madrid, España.
- Bunting E. (1975) The question of grain content and forage quality in maize: Comparisons between isogenic fertile and sterile plants. *The Journal of Agricultural Science*, 85(3): 455-463.
- Cámara Argentina de Contratistas Forrajeros (2023) Estadísticas. <https://www.ensiladores.com.ar/> (acceso: 30 mayo de 2023)
- Calvelo A.J. (2000) La Fitotecnia en la Argentina, Disertación. Academia nacional de Agronomía y Veterinaria. 54: 255-273
- Carrete J.R., Scheneiter J.O., Ceconi I. (2000) Producción y calidad de la planta entera y calidad del silaje de híbridos comerciales y experimentales de maíz. 23º Congreso Argentino de Producción animal. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 20(1): 129-130.
- Deinum B., Bakker J.J. (1981) Genetic differences in digestibility of forage maize hybrids. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 29(2): 93-98.
- Dilkes S.L. (1953a) We need more silage—1. Looking backward. *Journal of the Department of Agriculture, Western Australia, Series 3*, 2(4): 49-54.
- Dilkes S.L. (1953b) We need more silage—2. Principles and processes involved. *Journal of the Department of Agriculture, Western Australia, Series 3*, 2(5): 30-31.
- Dilkes S.L. (1953c) We need more silage—3. Nutritive qualities. *Journal of the Department of Agriculture, Western Australia, Series 3*, 2(6): 28-30.
- Dimitri M.J., Parodi L.R. (1988) Enciclopedia Argentina de agricultura y jardinería. 3ra Edición, Editorial Acme SACI, Buenos Aires, Argentina.
- Dhillon B.S., Paul C., Zimmer E., Gurrath P.A., Klein D., Pollmer W.G. (1990) Variation and covariation in stover digestibility traits in diallel crosses of maize. *Crop Science*, 30(4): 931-936.
- Doré C., Varoquaux F. (2006) Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées. Editions Quae, Versailles, Francia.
- Ferrand L., Roig J., Velazco J.G., Rimieri P. (2012) Variabilidad genotípica en líneas de maíz para caracteres relacionados con la calidad forrajera. Comunicaciones Libres XV Congreso Latinoamericano de Genética, XLI Congreso Argentino de Genética, XLV Congreso Chileno de Genética y II Reunión SAG Litoral, 28-31 octubre 2012, Rosario, Santa Fé.
- Gallais A., Pollacsek M. (1975) Possibilités de sélection du maïs en tant que plante

- fourragère. Proceedings VIII Eucarpia Congress, pp. 68–76.
- Gallo Candolo G. (2022) El ADN de la soja y del maíz híbrido en la Argentina: aportes a la historia de la investigación y los primeros cultivos en la Argentina. Asociación Bonaerense de Periodistas Agropecuarios, Buenos Aires.
- García Stepien L.E. (2012) Distribución vertical del rendimiento y la calidad forrajera en el componente vegetativo de la planta de maíz (*Zea mays* L.). Tesis Doctoral, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires.
- Guillaumie S., Pichon M., Martinant J.P., Bosio M., Goffner D., Barrière Y. (2007) Differential expression of phenylpropanoid and related genes in brown-midrib *bm1*, *bm2*, *bm3*, and *bm4* young near-isogenic maize plants. *Planta*, 226: 235–250.
- INASE (2023) <https://gestion.inase.gob.ar/consultaGestion/gestiones>. (acceso: 23 febrero 2023)
- Incognito S.J.P. (2019) Tolerancia al estrés por alta densidad en maíz (*Zea mays* L.): efecto del mejoramiento y bases genéticas determinantes de caracteres arquitecturales asociados. Tesis Doctoral, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.
- La Martona (2008) Infocañuelas. <https://www.infocañuelas.com/turismo/la-martona-cuna-de-la-industria-lechera-nacional>
- Mazoti L.B., Hunziker J.H. (1976) Los precursores e iniciadores de la Genética en la Argentina. En: Mazoti L.B. y Hunziker J.H. (Eds.) Evolución de las Ciencias en la República Argentina (1923–1972). Tomo 4: Genética. Sociedad Científica Argentina, Buenos Aires, pp. 5–12.
- Parodi L.R., Dimitri M.J. (1964) Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería: El cultivo de las plantas útiles. Editorial ACME S.A.C.I., Buenos Aires, Argentina.
- Pedersen J.F. (1996) Breeding Sorghum And Pearl Millet For Forage And Fuel. Agronomy & Horticulture - Faculty Publications. 946. <https://digitalcommons.unl.edu/agronomyfacpub/946> (acceso: 23 febrero 2023).
- Pinter L. (1986) Ideal type of forage maize hybrid (*Zea mays* L.). Breeding of silage maize. Proceedings of the 13th Congress of the Maize and Sorghum Section of EUCARPIA, 9–12 September 1986, Wageningen, Netherlands, pp. 123–130.
- Reynoso L., Rimieri P. (1994) Variabilidad genética para pastoreo en poblaciones de maíz macolladoras. *Revista Argentina de Producción Animal (RAPA)*, 14(1).
- Reynoso L.R. (1996) Variabilidad genética para macollamiento y rebrote en el género *Zea*. Tesis de Postgrado. VI Curso de Postgrado en Mejoramiento Genético Vegetal. UNR-EEA INTA Pergamino.
- Rimieri P. (1990) Organisation de la variabilité genetique de 991 populations de maïs et interet pour l'amélioration du maïs fourrage. Doctoral dissertation, Univ. Paris 11. Orsay. Francia.
- Rimieri, P. (2008) Producción máxima de forrajes en suelos agrícolas. Potencial de producción de la planta entera de maíz para silaje. Reunión Anual sobre Forrajes, 21 noviembre 2008, Pergamino, Argentina.
- Rimieri P. (2011) Tendencias y criterios de selección en maíz para silaje. XIII Reunión Anual sobre forrajes, 1 diciembre 2011, INTA-UNNOBA, Pergamino, Argentina.
- Rimieri P. (2021) Aspectos agronómicos de relevancia en poblaciones utilizadas como base para el mejoramiento genético vegetal. *BAG. Journal of basic and applied genetics*, 32(2): 71–74.
- Rojas C.A. (1999) Evaluación de criterios de selección en maíces adaptados a la región maicera central. Efecto del macollamiento. Estrategias de translocación de fotosintatos. Tesis de Grado, Universidad Nacional de Misiones, Misiones.
- Scheneiter J., Carrete J., Rimieri P., Devito C. (1996) Producción y calidad de maíz para silaje. *Revista de Tecnología Agropecuaria*, 1(2): 63–66.
- Scheneiter J.O., Rimieri P., Carrete J.R., Camarasa J.N., Peña J., Velazco J.G. (2011) 1995–2010. Progresos en la tecnología del maíz para silaje. Reunión Anual sobre Forrajes, 1 diciembre 2011, Pergamino, Argentina.
- Universidad Nacional de La Plata (2014) https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/55360/mod_resource/content/1/Disertaci%C3%B3n%20Marcenaro-Fraga%20Experiencia%20del%20DATP%20de%20La%20Serenísima.pdf (acceso: 2 agosto 2022)
- Vessuri H. (2003) El hombre del maíz de la Argentina: Salomón Horovitz y la tecnología de la investigación en la fitotecnia sudamericana. https://repositorio.esocite.la/146/1/2003_Q_Maiz.pdf. (acceso: 5 junio de 2018)

EL MEJORAMIENTO GENÉTICO DE CEBADILLA CRIOLLA (*Bromus catharticus* Vahl) EN ARGENTINA: SÍNTESIS DE LOS LOGROS Y AVANCES



THE GENETIC IMPROVEMENT OF PRAIRIE GRASS (*Bromus catharticus* Vahl) IN ARGENTINA: SYNTHESIS OF ACHIEVEMENTS AND ADVANCES

Martínez E.S.¹, Rimieri P.²

¹Estación Experimental Agropecuaria Pergamino, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Avenida Frondizi (ruta 32) km 4,5, 2700 Pergamino.

²Ex Investigador INTA, Asesor científico en fitomejoramiento y obtentor de cultivares

Corresponding author:
Martínez E.S.
martinez.emilce@inta.gob.ar

 ORCID 0009-0004-5995-5538

ABSTRACT

The prairie grass (*Bromus catharticus* Vahl) is the annual/biennial native forage grass of temperate climates of most importance and diffusion in Argentina. Several authors have studied the phenotypic variability in morphophysiological characters in cultivars and native populations of prairie grass. The first commercial cultivars were heterogeneous populations that were considered the best adapted in the temperate region of Argentina. Genetic, agronomic and molecular characterization of the selection base populations and of the germplasm conserved in the active bank of INTA Pergamino, contributed to knowing and conserving the available genetic diversity and, at the same time, provided usable genetic variability in breeding. The most representative cultivars considered in this work were *Pergamino Martín Fierro* MAG; *Fierro Plus* INTA, *Bar* INTA 200, *Rosalía* INTA and *INTA Calvu*, in which technological packages associated with the utilization in animal production were developed.

Key words: prairie grass, cultivars, germplasm, plant breeding

Cite this article as:

Martínez E.S., Rimieri P. 2023. THE GENETIC IMPROVEMENT OF PRAIRIE GRASS (*Bromus catharticus* Vahl) IN ARGENTINA: SYNTHESIS OF ACHIEVEMENTS AND ADVANCES. BAG. Journal of Basic and Applied Genetics XXXIV (1): 41-46.

RESUMEN

La cebadilla criolla (*Bromus catharticus* Vahl) es la gramínea forrajera nativa anual/bianual de clima templado de mayor importancia y difusión en la Argentina. Varios autores han estudiado la variabilidad fenotípica en caracteres morfofisiológicos en cultivares y poblaciones nativas de cebadilla criolla. Las primeras variedades cultivadas comerciales de cebadilla criolla, eran poblaciones heterogéneas a las que se las consideraba de mejor adaptación a toda la región de cultivo. Con los estudios de caracterización genética, agronómica y molecular de las poblaciones base de selección y del germoplasma conservado en el banco activo de INTA Pergamino, se contribuyó a conocer y conservar la diversidad genética disponible y al mismo tiempo, disponer de variabilidad genética utilizable en programas de mejoramiento. Los cultivares públicos más representativos considerados en este trabajo fueron: *Pergamino Martín Fierro* MAG, *Fierro Plus* INTA, *Bar* INTA 200, *Rosalía* INTA e *INTA Calvu*, en los que se desarrollaron paquetes tecnológicos asociados a la utilización en producción animal.

Palabras clave: cebadilla criolla, cultivares, germoplasma, mejoramiento genético.

Received: 06/02/2023

Accepted: 06/23/2023

General Editor: Elsa Camadro

DOI: 10.35407/bag.2023.34.01.05

ISSN online version: 1852-6233

LA ESPECIE

La cebadilla criolla (*Bromus catharticus* Vahl) es la gramínea forrajera nativa anual/bianual de clima templado de mayor importancia y difusión en la Argentina. En este trabajo haremos una sucinta descripción de los recursos genéticos del género *Bromus* y desarrollaremos los pasos y protocolos que fueron aplicados en la Estación Experimental Pergamino, INTA, Argentina, desde 1940 hasta la actualidad, que contribuyeron especialmente a la difusión de la especie mediante la obtención de cultivares referentes para el mercado varietal.

Bromus catharticus Vahl (synm. *Bromus unioides* H.B.K.; *Bromus wildenowii* Kunth), es una gramínea forrajera de importancia considerando el área sembrada. Recibe el nombre común de cebadilla criolla, cebadilla australiana, *rescue grass* (EE.UU.) y *prairie grass* (Nueva Zelanda). Perteneció a la familia Poaceae, subfamilia Festucoidea y tribu Festuceas. Especie predominantemente autógena.

Los recursos genéticos del género *Bromus*, están representados en Argentina por 30 especies. La variación genética dentro y entre especies, con la diversidad que posee el género y sus interrelaciones filogenéticas, permite definir tipos morfológicos o morfotipos de interés agronómico para utilizar como cultivos forrajeros, cultivos de cobertura y para fitorremediación.

Varios autores han estudiado la variabilidad fenotípica en caracteres morfofisiológicos en cultivares y poblaciones nativas de cebadilla criolla (Pérez López, 1975; Pahlen, 1986; Pistorale y Wolff, 1996; Rosso, 2001; Gioco, 2002) o algunos parámetros genéticos y plasticidad fenotípica (Arturi *et al.*, 1983; Szpiniak *et al.*, 1995; Gioco, 2002; Aulicino y Arturi, 2002; Alvarez, 2010), como también, diferencias significativas interpopulacionales (Pahlen, 1986; Wolff *et al.*, 1996; Rosso *et al.*, 2009).

PRODUCCIÓN Y UTILIZACIÓN

La difusión de cebadilla criolla en nuestro país se inició en 1952, con la liberación al mercado nacional del cultivar población denominado *Pergamino Martín Fierro* MAG, cuyo obtentor fue el Ing. Agr. Hernán Serrano.

La cebadilla criolla está adaptada a toda la región pampeana húmeda y subhúmeda y valles irrigados, tanto para la utilización forrajera como para cultivos de cobertura. Es una especie que presenta plasticidad fenotípica, descripta reiteradamente por botánicos y agrónomos, característica que deberá considerarse al definir los criterios de selección y en el desarrollo del proceso selectivo.

Las primeras variedades cultivadas comerciales de

cebadilla criolla, eran poblaciones heterogéneas a las que se las consideraba de mejor adaptación a toda la región de cultivo. Este criterio que era común en forrajeras, fue lentamente cambiando y actualmente un cultivar de cebadilla debe responder al tipo multilínea, estable y homogéneo fenológicamente y fenotípicamente y con características morfológicas, de valor nutritivo y agronómicas, acordes a los sistemas productivos.

La recomendación de la utilización de un nuevo cultivar deberá considerar sistemas productivos por regiones y tipos de suelo para los dos nichos principales de utilización de la cebadilla: 1) forrajera y 2) cultivo de cobertura. Es importante que esas especificidades sean demostradas con el aval de ensayos a campo usando cultivares testigos referentes, realizando análisis estadísticos pertinentes y complementados con ensayos de laboratorio y/o macetas. En el caso de los cultivares inscritos por INTA, fueron obtenidos implementando ensayos a campo y laboratorio en el marco de proyectos institucionales, convenios de vinculación con empresas privadas y tesis de grado y de posgrado. Esto permitió formular paquetes tecnológicos y publicaciones científicas con aportes de los investigadores de las distintas disciplinas, sus ayudantes técnicos, sus becarios y tesistas.

HISTORIA DEL MEJORAMIENTO EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGROPECUARIA PERGAMINO, INTA

Los conocimientos de la variabilidad fenotípica de las cebadillas estuvieron tradicionalmente basados en caracteres morfológicos. Con los estudios sobre el género *Bromus*, se contribuyó a conocer y conservar la diversidad genética disponible y al mismo tiempo, disponer de variabilidad genética utilizable en programas de mejoramiento (Rimieri y Wolff, 2010). En este género la plasticidad fenotípica puede afectar la estimación de la variabilidad genética y para poder distinguirla de la variabilidad intrínseca de las poblaciones, será necesario elegir, caracterizar y comparar líneas contrastantes en caracteres morfofisiológicos, que además de mejorar las características agronómicas de las líneas puras, permitan la diferenciación varietal de las multilíneas obtenidas.

Desarrollaremos los pasos y protocolos del programa de mejoramiento de cebadilla criolla que fueron aplicados en la Estación Experimental Pergamino, INTA, Argentina. En una primera etapa, en 1940 Hernán Serrano realizó selección masal del germoplasma colectado en las poblaciones de cebadilla criolla de la región pampeana. La selección se basó en la obtención de una población uniforme fenológicamente, macolladora, tolerante a enfermedades foliares, persistente y de porte semierecto.

En 1980 se organizó el Banco Activo de Germoplasma de INTA Pergamino (BAP). En ese momento *Pergamino Martín Fierro MAG* era la variedad más difundida. Se realizaron estudios sobre la variabilidad genética existente dentro de *Pergamino Martín Fierro MAG* para conocer su potencial como fuente de nuevos cultivares. Al mismo tiempo en el BAP se iniciaron los trabajos de caracterización para varios atributos agronómicos y morfofisiológicos, con las accesiones colectadas con el fin de detectar nueva variabilidad genética para el programa de mejoramiento.

En 1998 se decidió iniciar una segunda etapa de selección mediante metodologías acordes a la demanda de un mercado varietal competitivo, para lo cual se formuló un proyecto de mejoramiento genético para la obtención de nuevos cultivares multilíneas. El germoplasma de origen para la colección de trabajo del programa de mejoramiento estuvo constituido por los cultivares: *Pergamino Martín Fierro MAG*, *Tijereta*, *Bellegarde*, *Anabel* y tres orígenes del BAP. Con ese programa de mejoramiento y mediante un Convenio de Vinculación Tecnológica, se obtuvieron en una primera etapa, los cultivares *Fierro Plus INTA* y *BarINTA 200*, inscriptos en el Registro Nacional de Cultivares del INASE en 2001. El primero, derivado de la población original *Pergamino Martín Fierro MAG* y el segundo de líneas de cultivares franceses (INTA, 2001a, 2001b). En una segunda etapa, fueron obtenidos dos cultivares multilíneas: *Rosalía INTA* e *INTA Calvu*, inscriptos en el INASE en 2010 (INTA, 2010a, 2010b). Los cuatro cultivares tienen la propiedad a nombre de INTA y el obtentor fue Pedro Rimieri.

CULTIVARES

Pergamino Martín Fierro MAG (1952)

Cultivar Población, uniforme fenotípicamente, fue obtenido por H. Serrano en 1952 por selección masal de germoplasma colectado en la región pampeana con adaptación general a los ambientes húmedos y subhúmedos de la mencionada región. Fue adoptado rápidamente en los sistemas ganaderos y se convirtió, por su participación creciente y dominante en el mercado de semillas, en la forrajera más importante en volumen de semilla comercializada cada año durante cuatro décadas.

Fierro Plus INTA (2001)

Cultivar Multilínea derivado de la población original *Pergamino Martín Fierro MAG*, con mayor uniformidad, producción, calidad y sanidad, conservando la adaptación general de la población de origen. Es de porte semierecto, de hojas anchas y verde claro. Se caracteriza

por plantas muy macolladoras, con rebrote rápido y vigoroso después de un pastoreo o corte mecánico.

Fierro Plus INTA tiene mayor producción en el invierno y en el verano del segundo año. Presenta tolerancia a *Cercosporidium* (mancha parda de la hoja) con un porcentaje de tejido afectado entre 3% y 5% a diferencia de los cultivares comerciales testigos que son medianamente susceptibles ($12\% \pm 3$ de tejido afectado).

Este cultivar multilínea, concentra características de adaptación y persistencia de 20 líneas de la población original que fueron seleccionadas en condiciones de pastoreo y corte en Pergamino. Las 20 líneas seleccionadas son de características fenotípicas similares y responden a un mismo patrón de ADN (RAPD). Los métodos de selección, las evaluaciones agronómicas, las técnicas moleculares y de valor nutritivo aplicadas, ayudaron a mejorar la performance agronómica y permitieron el control de la pureza varietal.

BarINTA 200 (2001)

Cultivar seleccionado por macollamiento, persistencia y producción. Derivado de cultivares franceses y líneas nativas. Presenta características agronómicas similares a los cultivares tradicionales de cebadilla *Pergamino Martín Fierro MAG* y *Tijereta*. El porte de las plantas y la precocidad son similares a estos cultivares, aunque se diferencia de ambos por sus láminas de color verde más oscuro. Es levemente más macolladora, menos foliosa, con plantas más altas y láminas más grandes que *Fierro Plus INTA*. Su comportamiento sanitario es similar a este último.

Rosalía INTA (2010)

Cultivar derivado de dos orígenes selectos de *Pergamino Martín Fierro MAG*; es de porte semierecto, color verde oscuro y ciclo intermedio; como verdeo en cultivo puro expresa su máximo potencial. Además, tiene muy buen comportamiento en mezclas forrajeras con otras gramíneas y leguminosas. Con un manejo adecuado se comporta como bianual y tolera pastoreos frecuentes en primavera con elevadas tasas de crecimiento.

Produce forraje de alta digestibilidad y bajo contenido de fibra, con mayor proporción de hojas que el germoplasma de origen. Es el cultivar de mayor proporción de hojas (láminas) dentro de los cultivares comerciales evaluados en 2009 en la EEA Pergamino. En análisis de calidad de forraje realizados, se determinó que en los períodos de mayor producción otoño y primavera, la digestibilidad varió entre 83% y 66%, mientras que el rango de fibra (FDN) varió entre 42% y 51%. El menor valor de digestibilidad y el mayor de fibra se corresponden con el momento de panojamiento y máxima acumulación de materia seca (MS), como era

esperable, aunque son valores muy buenos de calidad, aún para ese estado fenológico.

Rosalía INTA en las pasturas perennes base alfalfa-festuca, produce tempranamente en el invierno del primer año cuando la festuca y la alfalfa aún no expresan su potencial. En las mezclas bifíticas alfalfa-cebadilla se produce una mayor acumulación de forraje invernal comparado con la alfalfa pura.

INTA Calvu

Cultivar derivado de poblaciones conservadas en el BAP; posee un crecimiento rápido y agresivo, de porte semi-rastrero y color verde oscuro azulado. Es más heterogéneo que *Fierro Plus INTA*. Presenta tallos gruesos con mayor potencial de rendimiento acumulado y es menos hojoso que *Fierro Plus INTA* y *BarINTA 200*. La altura de planta en encañazón es similar a estos dos cultivares, aunque sus panojas son más largas. Es un cultivar de crecimiento rápido y agresivo. Su precocidad y perfil sanitario son similares a *Fierro Plus INTA*.

Los cuatro cultivares descriptos, que responden a la clasificación de cultivar multilínea, están adaptados a toda la región pampeana húmeda y subhúmeda, tanto para la utilización forrajera o como cultivos de cobertura. Lo que ha sido comprobado con ensayos efectuados durante 10 años. Por el ciclo y la condición de bianual, se comportan como un verdeo de mayor duración que los tradicionales y complementario de la avena, de la cebada y del raigrás anual.

Tabla 1. Kilogramos de materia seca acumulada (kgMS) por ha, promedio anual, 2009, en cuatro cultivares de cebadilla (CC) y dos de Cebada (C). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)

Cultivar	kgMS ha ⁻¹ acumulada	
<i>Bar INTA 200</i> (CC)	8.328	a
<i>Fierro Plus INTA</i> (CC)	8.940	ab
<i>Rosalía INTA</i> (CC)	9.609	ab
<i>Calvú INTA</i> (CC)	9.740	abc
<i>Alicia INTA</i> (C)	11.598	bc
<i>Mariana INTA</i> (C)	12.676	c

En la Tabla 1, como era esperable, se observa que la cebada forrajera supera a las cebadillas, pero como ya fuera mencionado, las cebadillas complementan a

otros verdeos y pasturas polifíticas, aportando forraje a lo largo del otoño y la primavera y aún en el verano. Además, con un manejo adecuado persisten hasta la primavera del segundo año. Los dos cultivares del primer ciclo de selección, *Fierro Plus INTA* y *BarINTA 200*, fueron superados por los de segundo ciclo, *Rosalía INTA* e *INTA Calvu*, aunque no significativamente ($p < 0,05$). *INTA Calvu*, aunque con rendimiento acumulado menor, no tuvo diferencias significativas ($p < 0,05$) con las cebadas, por lo que puede considerarse a este cultivar, como un verdeo de cebadilla de mayor potencial de producción acumulada.

VARIABILIDAD GENÉTICA Y PLASTICIDAD FENOTÍPICA DE POBLACIONES NATIVAS Y CULTIVARES COMERCIALES

Debido a que las poblaciones de cebadilla constituyen grupos de líneas puras, el estimador de mayor utilidad es la heredabilidad en sentido amplio (H^2) o grado de determinación genética (GDG) (Falconer, 1989). El GDG expresa la confiabilidad de los valores fenotípicos de las poblaciones como indicadores de sus valores genotípicos en los diferentes caracteres cuantitativos (Falconer, 1970). En el programa de mejoramiento de cebadilla criolla de la EEA Pergamino INTA, el interés en la estimación del GDG radicó en la determinación de la influencia del efecto ambiental (plasticidad) sobre los distintos caracteres. La plasticidad fenotípica fue definida por Bradshaw (1965) como la capacidad que tiene un genotipo de generar un amplio rango de fenotipos diferentes según el ambiente en el que se desarrolla el organismo. Esta característica constituye una ventaja adaptativa para la cebadilla criolla que le permite responder a pequeños cambios ambientales, compensando los bajos niveles de variabilidad genética asociados a la autogamia.

El programa de mejoramiento de la EEA Pergamino, se complementó con estudios de caracterización genética, agronómica y molecular de las poblaciones base de selección y del germoplasma conservado en el BAP. Estos estudios permitieron ampliar la información sobre la diversidad genética conservada en la colección de *Bromus* sp. del BAP, conocer la variabilidad genética disponible para selección y, mediante marcadores moleculares, hacer una mejor cuantificación de esa variabilidad, independiente del ambiente (Puecher *et al.*, 2001; Gieco, 2002; Sellaro *et al.*, 2003a, 2003b; Pagano *et al.*, 2007). Se detectaron moderados a bajos niveles de variabilidad genética y sólo unas pocas poblaciones de áreas marginales constituirían una fuente novedosa de variabilidad (Pagano *et al.*, 2007, Cuyeu, 2008). Con esas poblaciones de las áreas marginales se puede

iniciar un proyecto para mejorar el rendimiento de este cultivo para ambientes con déficit hídrico, ya que se encontró una asociación positiva significativa entre la humedad/nivel de lluvia y la diversidad fenotípica en las poblaciones argentinas (Cuyeu *et al.*, 2015). En general y considerando seis geo-grupos de entradas de *Bromus catharticus* Vahl disponibles en el mundo, se encontró una pobre diferenciación genética entre los mismos, mediante marcadores SRAP (Yi *et al.*, 2021).

La estimación de baja variabilidad genética en esta especie, cuestionaba a la información basada en estudios clásicos que indicaban amplia variabilidad, como así también con la observación de fenotipos muy diferentes dentro de las poblaciones de cebadilla criolla. Para contribuir a aclarar esta contradicción se analizaron por RAPDs genotipos de cebadilla criolla seleccionados en el programa de mejoramiento de la EEA Pergamino INTA por su morfología contrastante y no fue posible establecer una relación entre la variación morfológica y la molecular (Gieco, 2002). Cuando se consideró la estructura genética de líneas y poblaciones, la variancia ambiental superó a la variancia genética en prácticamente todos los caracteres y se obtuvieron valores de GDG moderados y bajos en las poblaciones, independientemente de su estructura genética, y la gran variabilidad fenotípica observada se debió en su mayor parte al efecto ambiental (Alvarez *et al.*, 2010).

Debido a los resultados obtenidos en estos trabajos, se realizaron colectas en zonas relativamente áridas y por lo tanto marginales al cultivo de esta especie con el fin de incluir nuevas accesiones a la colección. Además, se incorporaron poblaciones de otras especies del género *Bromus* que coexisten con la cebadilla criolla. Se estudiaron poblaciones de *B. catharticus* Vahl., *B. stamineus* E. Desv., *B. inermis* Leyss. y *B. auleticus* Trin. ex Nees. La similitud genética fue mayor dentro de cada especie y el análisis de agrupamiento permitió distinguir claramente a las cuatro especies. La inclusión de poblaciones de *B. catharticus* colectadas fuera de las áreas típicas de utilización de la especie como pastura, permitió ampliar significativamente la diversidad genética de la colección de *Bromus* sp. conservada en el BAP (Rosso, 2019).

PERSPECTIVAS DEL MEJORAMIENTO

En una mirada futura respecto al mejoramiento del género *Bromus* será importante explorar nuevas poblaciones en áreas marginales, para lograr mayor representatividad de la diversidad genética del género y así de ampliar la variabilidad genética disponible para ser utilizada. Consideramos, además, que la caracterización genética, agronómica y molecular de las poblaciones selectas y del germoplasma del BAP que

hemos descripto, es un buen ejemplo en concordancia con los planes de acción, directrices técnicas y el Tratado Internacional sobre los Recursos Fitogenéticos de FAO y con bibliografía que considera las relaciones entre los recursos fitogenéticos, la biodiversidad y el fitomejoramiento (Merezhko, 1998; Fernie y Schauer, 2009; FAO, 2010, 2015, 2019; Camadro y Rimieri, 2011; Uluhan, 2011). Esa asociación y complementación de bancos de germoplasma con programas de mejoramiento genético, la hemos implementado en una especie nativa anual/bianual de origen hexaploide que se comporta como diploide, preferentemente autógama y que tiene dos tipos de floración (cleistógama y chasmógama).

Sintetizando, los trabajos realizados en cebadilla criolla, permitieron integrar los objetivos relacionados con el germoplasma (colecta, conservación y utilización) con los objetivos del mejoramiento genético para la obtención de cultivares. Se pudo avanzar mancomunadamente y aplicar los pasos y protocolos desarrollados en este trabajo, relacionados con la consideración permanente y simultánea de las estructuras genéticas y el sistema reproductivo en cada etapa del manejo del germoplasma de las colecciones como en los métodos de mejoramiento genético aplicados.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez A.M. (2010) Parámetros genéticos y evaluación agronómica de líneas y multilíneas de cebadilla criolla (*Bromus catharticus* Vahl.). Tesina para la obtención del Grado Académico de Licenciado en Genética, Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Misiones, Argentina.
- Alvarez A.M., Velazco J.G., Rimieri P. (2010) Estimación de parámetros genéticos y de la plasticidad fenotípica en líneas y multilíneas de *Bromus catharticus*. Comunicaciones Libres XXXIX Congreso Argentino de Genética, XIV Congreso Latinoamericano de Genética, 1-5 octubre 2010, Viña del Mar, Chile; p 256.
- Arturi M.J., Marchetta M.A., Rapela M.A., Mujica M.M. (1983) Variabilidad y correlaciones en cebadilla criolla. Rev. Fac. Agron. La Plata 59:191-197.
- Aulicino M.B., Arturi M.J. (2002) Phenotypic diversity in Argentinian populations of *Bromus catharticus* (Poaceae). Genetic and environmental components of quantitative traits. New Zealand Journal of Botany 40(2): 223-234.
- Bradshaw A.D. (1965) Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. Adv. Genet. 13: 115-155.
- Camadro E.L., Rimieri P. (2021) Conservación de germoplasma *Ex situ* revisada a la luz de mecanismos y métodos de genética. BAG. Journal of basic and applied genetics 32(1): 11-24.
- Cuyeu A.R. (2008) Aplicación de Marcadores Moleculares a estudios de Variabilidad Genética en Poáceas Forrajeras Templadas. Tesis para optar el título de Doctor en Ciencias Aplicadas, Universidad Nacional de Luján, Bs.As., Argentina.

- Cuyeu R., Pagano E., Rosso B., Soto G., Ayub N.D. (2015) The genetic diversity of wild rescuegrass is associated with precipitation levels. *Journal of genetics* 94(1): 29–34.
- Falconer D.S. (1970) Introducción a la Genética Cuantitativa. Compañía Editorial Continental, México.
- Falconer D.S. (1989) Introducción a la Genética Cuantitativa. Compañía Editorial Continental, México.
- FAO (2010) The Second Report on the State of the World's Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. FAO, Rome, Italy. <http://www.fao.org/docrep/013/i1500e/i1500e00.htm> (acceso, 31 mayo 2023).
- FAO (2015) Guidelines for developing a national strategy for plant genetic resources for food and agriculture. FAO, Rome Italy. <https://www.fao.org/publications/card/es/c/20217930-4d14-4e87-b144-8e0adb6828a7/> (acceso 29 mayo 2023).
- FAO (2019) The state of the world's biodiversity for food and agriculture. FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Assessments, Roma, Italia.
- Fernie, A. R., Schauer, N. (2009) Metabolomics-assisted breeding: a viable option for crop improvement? *Trends in genetics*, 25(1), 39–48.
- Gieco L. (2002) Caracterización genética y agronómica de genotipos de Cebadilla Criolla (*Bromus catharticus* Vahl.) con morfotipos diferentes para delinear criterios de selección. Tesis M.Sc., UNR-INTA, Rosario, Argentina.
- INTA (2001a) <https://inta.gob.ar/variedades/fierro-plus-inta>. (Ingreso a la página web: 3 de abril de 2023)
- INTA (2001b) <https://inta.gob.ar/variedades/barinta-200>. (Ingreso a la página web: 3 de abril de 2023)
- INTA (2010a) <https://inta.gob.ar/variedades/rosalia-inta>. (Ingreso a la página web: 3 de abril de 2023)
- INTA (2010b) <https://inta.gob.ar/variedades/inta-calvu>. (Ingreso a la página web: 3 de abril de 2023)
- Merezhko A. (1998) Impact of plant genetic resources on wheat breeding. *Euphytica* 100: 295–303.
- Pagano E.M., Rosso B.S., Rimieri P., Ríos R.D. (2007) Aplicación de marcadores moleculares al estudio de la variabilidad genética en el género *Bromus*. En: Clausen A., Condón F. y Berretta A. (Eds.) Avances de Investigación en recursos genéticos en el Cono Sur II. PROCISUR, IICA, Uruguay, pp. 61–67.
- Pahlen A. (1986) Evaluation of genetic variability of some native forage plants. *Bol. Gen. Inst. Fitot.* 14: 1–6.
- Pérez López F. (1975) Estudio de la variabilidad en poblaciones de *Bromus unioloides*. Tesis de MSc. Escuela para Graduados, INTA Castelar, Bs.As., Argentina.
- Pistolare S., Wolff R. (1996) Estrategia reproductiva en *Bromus catharticus* Vahl. (Cebadilla criolla) I. Componentes del rendimiento. XXVII Congreso Argentino de Genética. XXXIX reunión Anual Sociedad de Biología de Chile, 8–10 octubre 1996, Viña del Mar, Chile; p. 135.
- Puecher D.I., Robredo C.G., Ríos R.D., Rimieri P. (2001) Genetic variability measures among *Bromus catharticus* Vahl. populations and cultivars with RAPD and AFLP markers. *Euphytica* 121: 229–236.
- Rimieri P., Wolff R. (2010) La genética y el estado actual de la obtención y adopción de cultivares forrajeros en Argentina. *BAG. Journal of basic and applied genetics* 21(2): 1–7.
- Rosso B. (2001) Colecta y caracterización de cebadilla criolla (*Bromus catharticus* Vahl.) en la región central de Argentina. En: Diálogo LVI, Los recursos fitogenéticos del género *Bromus* en el Cono Sur. PROCISUR, IICA, Uruguay, pp. 99–101.
- Rosso B. (2019) Especies forrajeras de clima templado: catálogo 2019. Ediciones INTA, EEA Pergamino, Buenos Aires, Argentina.
- Rosso B., Pagano E., Rimieri P., Ríos R. (2009) Characteristics of *Bromus catharticus* Vahl. (Poaceae) natural populations collected in the central area of Argentina. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)* 66(2): 276–279.
- Sellaro R., Pagano E., Pimper L., Colombo N., Rosso B., Rimieri P., Ríos R. (2003a) Aplicación de marcadores moleculares al estudio de la variabilidad genética en el género *Bromus* (Poaceae). I. Análisis mediante RAPD. IV SIRGEALC, 10–14 noviembre 2003, Mar del Plata, Buenos Aires; p. 132.
- Sellaro R., Pagano E., Pimper L., Colombo N., Rosso B., Rimieri P., Ríos R. (2003b) Aplicación de marcadores moleculares al estudio de la variabilidad genética en el género *Bromus* (Poaceae). II. Análisis mediante primers universales de cloroplasto. IV SIRGEALC, 10–14 noviembre 2003, Mar del Plata, Buenos Aires; p. 133.
- Szpiniak B., Ferreira V., Seeplarsky A., Irico M. (1995) Análisis de la variación de *Bromus catharticus* Vahl. en ambientes subhúmedos-secos de la República Argentina con fines de mejoramiento. *Mendeliana* 11(2): 84–98.
- Ulukan H. (2011) The use of plant genetic resources and biodiversity in classical plant breeding. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B – Soil and Plant Science* 61(2): 97–104.
- Wolff R., Abbott L., Pistolare S. (1996) Reproduction behavior of *Bromus catharticus* Vahl. (cebadilla criolla) in natural and cultivated populations. *J. Genet. and Breed.* 50: 122–128.
- Yi L., Dong Z., Lei Y., Zhao J., Xiong Y., Yang J., ..., Ma X. (2021) Genetic Diversity and Molecular Characterization of Worldwide Prairie Grass (*Bromus catharticus* Vahl) Accessions Using SRAP Markers. *Agronomy* 11(10): 2054.

THE IMPORTANCE OF DEEP GENOTYPING IN CROP BREEDING



LA IMPORTANCIA DE LA GENOTIPIFICACIÓN PROFUNDA EN EL MEJORAMIENTO GENÉTICO

Zambelli A.^{1,2}

¹Facultad de Ciencias Agrarias,
Universidad Nacional de Mar del Plata,
Ruta 226 km 73.5, (7620) Balcarce, Buenos
Aires, Argentina

²CONICET

Corresponding author:
Andres Zambelli
andres.zambelli@mdp.edu.ar

 ORCID 0000-0003-2057-4653

Cite this article as:

Zambelli A. 2023. THE IMPORTANCE OF
DEEP GENOTYPING IN CROP BREEDING.
BAG. Journal of Basic and Applied
Genetics XXXIV (1): 47–56.

Received: 04/25/2022

Revised version received: 07/11/2022

Accepted: 07/14/2022

General Editor: Elsa Camadro

DOI: 10.35407/bag.2023.34.01.02

ISSN online version: 1852-6233

ABSTRACT

One of the greatest challenges facing humanity is the development of sustainable strategies to ensure food availability in response to population growth and climate change. One approach that can contribute to increase food security is to close yield gaps and enhancing genetic gain; to such end, what is known as “molecular breeding” plays a fundamental role. Since a crop breeding program is mainly based on the quality of the germplasm, its detailed genetic characterization is mandatory to ensure the efficient use of genetic resources and accelerating development of superior varieties. Deep genotyping is an essential tool for a comprehensive characterization of the germplasm of interest and, fortunately, the technology is now accessible at a reasonable cost. What must be ensured is the correct interpretation of the genotypic information and on that basis develop efficient practical molecular crop breeding strategies that respond to the real needs of the breeding program.

Key words: breeding population, genetic resources, marker assisted selection, Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

RESUMEN

Uno de los mayores desafíos que enfrenta la humanidad es el desarrollo de estrategias sostenibles para asegurar la disponibilidad de alimentos en respuesta al crecimiento de la población y el cambio climático. Un enfoque que puede contribuir a aumentar la seguridad alimentaria es cerrar las brechas de rendimiento y mejorar la ganancia genética; para tal fin, lo que se conoce como “mejoramiento molecular” juega un papel fundamental. Dado que un programa de mejoramiento de cultivos se basa principalmente en la calidad del germoplasma, su caracterización genética detallada es fundamental para garantizar el uso eficiente de los recursos genéticos y acelerar el desarrollo de variedades superiores. La genotipificación profunda es una herramienta esencial para una caracterización integral del germoplasma de interés y, afortunadamente, en la actualidad se puede acceder a la tecnología a un costo razonable. Lo que debe asegurarse es la interpretación correcta de la información genotípica y sobre esa base desarrollar estrategias eficientes y prácticas de mejoramiento molecular de cultivos que respondan a las necesidades reales del programa de mejoramiento.

Palabras clave: población de mejoramiento, recursos genéticos, selección asistida por marcadores, polimorfismo de nucleótido único (SNP)

INTRODUCTION

Crop breeding is a long-term process that usually takes around ten years to develop and release a new variety. Crop breeding is a large-scale logistical operation involving thousands to hundreds of thousands of plants in the initial line fixation stage, but numbers are greatly reduced to a small number of selected advanced breeding lines by the end of the process: approximately 99% of the original starting material in a breeding program is rejected and discarded (Lenaerts *et al.*, 2019). The Food and Agriculture Organization of the United Nations defined modern plant breeding as “the act of using genetic diversity to improve the agronomic performance of plants conducted as a formal endeavor and according to scientific principles” (FAO, 1997). Cooper *et al.* (2014) defined modern plant breeding as an integration of quantitative genetics, statistics, gene-to-phenotype knowledge, and development models, applied to understand the functional diversity of germplasm (Smith *et al.*, 2015).

Crop improvement in a context of continuous population growth and with climatic changes affecting agronomic production has become a major global concern (Hickey *et al.*, 2019). Faced with these threats, current crop improvement strategies are unlikely to achieve genetic gains that satisfy the demand for food both in terms of quantity and quality. In addition, radical changes derived from climate change are causing heat stress and drought, which leads to significant yield losses, so plant breeding strategies need to be adapted to increase their efficiency.

The application of molecular genetics in crop improvement has spread significantly since the appropriate use of the so-known “molecular breeding” (i.e., genotype-based approaches) has demonstrated to contribute to increase genetic gain with a highly favorable cost-benefit ratio (Ismail and Horie, 2017; Xu *et al.*, 2017; Bailey-Serres *et al.*, 2019). The correct choice of genotyping technology allows a fine genetic characterization of germplasm, assisted selection, as well as the implementation of genomic selection strategies.

Lack of in-depth analysis when implementing a molecular breeding strategy can lead to failure, generating many undesirable results and discouraging breeders from using the technology. Consequently, before implementing a molecular breeding strategy, a serious analysis of its advantages and disadvantages is strongly recommended, taking into consideration the DNA technology of choice, the genetic diversity of the germplasm, the architecture of the traits of agronomic interest to be improved, and the resources demanded (Zambelli, 2019; Bohar *et al.*, 2020).

GENETIC CHARACTERIZATION OF GERMPLASM

The configuration of an efficient molecular breeding strategy must begin with a comprehensive genetic characterization of the germplasm of interest through deep genotyping. Once characterization is complete, the next challenge is to identify useful applications of genotype-based technology to increase genetic gain.

Genetic characterization is relevant for germplasm management and agronomic use of both agricultural crops and their respective wild relative species. The use of genomic tools is today technical and practically more accessible than before, mainly due to the development of next-generation sequencing (NGS) technologies and the reduction of their application costs (Wu *et al.*, 2014; Dempewolf *et al.*, 2017; Milner *et al.*, 2019; Sansaloni *et al.*, 2020; Fu *et al.*, 2021).

The topics to be listed when addressing the genetic characterization of germplasm include SNP deep genotyping, genetic diversity, genetic relationships, linkage disequilibrium, association mapping, and population structure.

SNP deep genotyping

Different types of molecular marker systems have been used for genotyping applied in plant breeding: restriction fragment length polymorphisms (RFLPs), random-amplified polymorphic DNAs (RAPDs), amplified fragment length polymorphisms (AFLPs), Diversity Arrays Technology (DART) and simple sequence repeats (SSRs). However, currently the most advanced and commonly used marker systems are single nucleotide polymorphisms (SNPs). Their abundance in genomes and the achievability to adapt them to automated platforms have expanded access to deep genotyping at reasonable costs, making SNPs the most widely adopted marker system for different genomic applications (Mondini *et al.*, 2009). With the increasing throughput of NGS technologies, *de novo* and reference-based SNP discovery are today feasible for most crop species.

When applying NGS two variables need to be attended: coverage and sequencing depth. Coverage indicates the average number of reads that cover a specific target genomic region, describing a relationship between the number of reads and a reference region, and can be expressed in terms of average coverage (for example, 10X means that on average the target regions are covered by 10 reads). Instead, sequencing depth describes the absolute number of total usable reads produced by sequencing, usually expressed in number of reads (in millions). Depending on the experimental objective of interest, coverage can vary from the entire genome, one

locus, or random nucleotide positions.

There are several genotyping methods available which are generally offered by commercial parties for which only tissue samples need to be sent for DNA extraction. Widely adopted genotyping options fall into three categories: whole genome resequencing (WGR), reduced representation sequencing (RRS), and SNP arrays (Scheben *et al.*, 2017). WGR and RRS methods are based on NGS technologies and bioinformatics pipelines that align reads to a reference genome and call both SNPs and genotypes (Scheben *et al.*, 2017; Pavan *et al.*, 2020). WGR differs from RRS in the absence of a stage of reduction of genome complexity. RRS usually employs restriction enzymes (RE) to digest genomic DNA prior to sequencing (method identified as RE-RRS) giving rise to genotyping-by-sequencing technology or GBS (Elshire *et al.*, 2011).

SNP arrays rely on allele-specific oligonucleotide (ASO) probes (including target SNP loci plus their flanking regions) fixed on a solid support, which are used to interrogate complementary fragments from DNA samples and infer genotypes based on the interpretation of the hybridization signal. The two leader manufacturers (Affymetrix™ and Illumina™) had developed 46 SNP arrays for 25 crop species with several markers ranging from 3K to 820K, although for their routine application in the molecular breeding of the most prominent field crops, arrays of 25–50K are usually chosen (Rasheed *et al.*, 2017).

The use of WGR, at least for the moment, is not considered financially feasible in large genome crops such as corn (2.5 Gbp), barley (5 Gbp), and wheat (17 Gbp). However, the final decision on the convenience of making the investment will depend on the commercial importance of the crop, the added value of the trait of interest and the expected net return. For most of molecular breeding applications, deep genotyping by using GBS or SNP arrays is recommended as they allow a satisfactory balance among the number of SNP loci genotyped, quality data, and costs.

In GBS technology, the allele-calling does not require a reference genome, offering an unbiased method to

assess genetic diversity in a large collection of accessions, especially in orphan crops because SNP discovery and genotyping can be done simultaneously with less bias toward genetic backgrounds (Rasheed *et al.*, 2017; Darrier *et al.*, 2019). When the germplasm includes commercial materials combined with exotic materials, GBS would be the most appropriate genotyping. The disadvantage of using SNP arrays is the risk that some SNPs may not be informative for all individuals. Since the ASO probes immobilized in the array are fixed and predefined (identified from a restricted set of genotypes, mostly public) the proportion of useful SNP for capturing the genetic diversity of the germplasm of interest cannot be predicted. Therefore, one of the limitations to work with SNP arrays is the ascertainment bias since they cannot identify marker-trait associations for SNPs that were not present in the population used for array development (Frascaroli *et al.*, 2013; Lachance and Tishkoff, 2013; Rasheed *et al.*, 2017; Negro *et al.*, 2019). Contrarily, GBS ensure that all SNPs discovered will be informative for all the sequenced genotypes of interest, producing high-quality polymorphism data. Although actual relative costs vary with the number of samples and the SNP density required, is widely considered that pricing of genotyping by GBS is lower than SNP arrays (Li *et al.*, 2015; Pavan *et al.*, 2020). An extra complexity of GBS respect to arrays is the necessity of library preparation and bioinformatics analysis (Elshire *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2015; Sansaloni *et al.*, 2020; Fu *et al.*, 2021). The good news is that there are many companies that provide the service at reasonable prices. In Table 1, the main features of both genotyping technologies are summarized.

Once genotype information is collected (independently of the technology used), an adequate filtering criterion considering different indicators should be followed to define the high-quality genotyping dataset to avoid inaccuracies and bias in downstream analyses. The presence of SNP loci with a high rate of missing data is considered a feature of inaccurate genotype calls, so those SNPs should be excluded from the analysis. SNP loci characterized by excessive heterozygosity should

Table 1. Comparison of the main features of genotyping by SNP* array and GBS** technologies

Genotyping technology	Cost per sample	Cost per data point	Proportion of informative SNPs	Informative for exotic materials	Ascertainment bias
SNP array	Moderate - High	Low - Moderate	Moderate - High	Variable	Yes
GBS	Moderate	Low	High	Yes	No

*SNP= single nucleotide polymorphic; **GBS=(completar)

also be excluded, as they are indicative of technical artifacts or paralogous/repetitive regions that could not be distinguished through the genotyping procedure. SNP loci displaying very low frequency alleles may derive into genotyping errors and provide poor statistical power to reveal association with phenotypic traits or establishing relative kinship. Thus, the recommended conditions that SNPs should meet are: (i) up to 10% of missing genotype calls; (ii) up to 10% of heterozygous calls (assuming inbred lines are being genotyped); (iii) the number of heterozygous calls does not exceed the number homozygous minor allele counts; and (iv) minor allele frequency (MAF) > 0.05 (Wu *et al.*, 2014; Darrier *et al.*, 2019; Milner *et al.*, 2019; Pavan *et al.*, 2020).

Genetic diversity and genetic relationships

Productivity of most of field crops remains far below the potential due to several factors such as access to high quality seeds, irrigation, and fertilizers, abiotic stresses, high incidence of pests and diseases, and weeds. However, genetic improvement provides an approach to address some of these constraints, but largely depends on the availability of genetic diversity, systematic classification, and efficient use of the available germplasm.

A high-impact activity that contributes to improving germplasm management and utilization is the analysis of patterns of genetic diversity and population structure, which is important for broadening the genetic basis and therefore, to establish successful commercial breeding. Breeders demand a detailed genetics information of germplasm in order to (i) define core subsets of germplasm for specific traits, (ii) select parental combinations for developing progenies with maximum genetic variability for further selection, (iii) identify genetic duplicates for better germplasm management, (iv) enhance the search for unique germplasm with traits of breeding targets for better varietal development, (v) describe heterotic groups (Mohammadi and Presanna 2003; Reif *et al.*, 2003; Flint-Garcia *et al.*, 2009; Ertiro *et al.*, 2017; Ellis *et al.*, 2018; Jeong *et al.*, 2019; Singh *et al.*, 2019; Sansaloni *et al.*, 2020).

The assessment of genetic diversity within and between plant populations can be performed by using morphological features, biochemical characterization of allozymes, and DNA markers. DNA markers offer several advantages over phenotype-based alternatives as they are stable and detectable in all tissues regardless of growth, differentiation, or development stage and additionally, are not confounded by environmental, pleiotropic, and epistatic effects. The availability of low cost and high throughput SNP platforms facilitate genetic characterization of germplasm contributing to study the amount and distribution of genetic variation they contain, arising as a potent tool both for hybrid

breeding and inbred breeding. Use of genotype data to study genetic diversity can be mainly performed by calculation of population genetics parameters and analysis of genetic relationships among samples (Govindaraj *et al.*, 2015).

The measuring of genetic diversity is based on comparisons of individual genotypes within and between populations. The analysis starts with the construction of a genotype matrix, sample \times sample pairwise and the calculation of the genetic distance (or similarities) that can be done by different statistical methods, such as: (i) Nei and Li's coefficient, (ii) Jaccard's coefficient, (iii) simple matching coefficient, and (iv) modified Rogers' distance (Mohammadi and Presanna, 2003).

The two main ways of analyzing the resulting matrix are principal coordinate analysis (PCoA) and dendrogram (or clustering tree diagram). PCoA is used to produce a 2- or 3-dimensional scatter plot of the samples such that the distances among the samples reflect the genetic distances among them with a minimum of distortion. The second approach is to produce a dendrogram where samples are grouped in clusters according to their genetic similarity. Different algorithms were used for clustering, including Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages (UPGMA), neighbor-joining, and Ward's method (Govindaraj *et al.*, 2015).

Cluster analysis is of great help for breeders in defining which genotypes should be crossed to develop breeding populations that increase the chances of obtaining novel allelic combinations and to reverse or mitigate the genetic erosion. Besides, the analysis of genetic relationship is particularly useful when identifying the best materials to quickly integrate them into an eroded germplasm pool through exchange, purchase, or in-licensing germplasm (Beckett *et al.*, 2017; Leitão *et al.*, 2017; Vendelbo *et al.*, 2020). Different genetic materials, such as elite lines, ecotypes, landraces, subspecies, or wild relatives, are potential useful sources of genetic variation. Lack of genetic variation for traits of interest within the domesticated genetic pool, imposed a greater exploration of crop wild relatives (CWR). Thus, breeders in barley, maize, wheat, rice, sorghum, and soybean (among other species) reported a lack of variation for traits of interest within the domesticated germplasm, being exploration of CWR a feasible approach to mitigate the genetic erosion (Pourkheirandish *et al.*, 2020). Dempewolf *et al.* (2017) reviewed how CWR contributed to the development of improved crop varieties by crossing them with wild species carrying beneficial allelic variation for traits. Private industry has valued the diversity of CWRs and landraces, which sometimes is preferred as an alternative to the use of transgenic technology associated with high regulatory costs and often resisted by consumers (Dempewolf *et al.*, 2017). The proper use of GBS constitutes a powerful tool to reveal and measure the genetic variation contributed

by wild species, a previous step required for its potential use in crop improvement (Xu *et al.*, 2017).

Existence of heterotic parental gene pools constitutes the cornerstone in hybrid breeding programs as the prerequisite for achieving a high heterosis effect in hybrid crosses. Hybrid crop breeders evaluate the germplasm to assign inbred lines into distinct heterotic groups by studying combining ability, mainly based on grain yield. However, the use of molecular markers for genetic characterization of inbred lines can complement and fine-tune the combining ability data. Genetic distance estimates contribute to the assigning of genotypes to heterotic groups and the exploitation of complementary lines which maximize the outcome of hybrid breeding programs (Wu *et al.*, 2014; Xu *et al.*, 2014; Zhao *et al.*, 2015; Beckett *et al.*, 2017; Labroo *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2021).

Thus, plant breeding community has recognized that exploitation of genetic variability by conventional plant breeding in combination with genomics approaches have contributed to developing high yielding varieties or hybrids reducing the breeding cycle (Varshney *et al.*, 2005, 2021).

Linkage disequilibrium

Selection during crop breeding has caused a dramatic loss of genetic diversity in many genome regions of modern varieties. For instance, in major cereals and sunflower, reductions in diversity of 30–40% and 40–50%, respectively were estimated (Buckler *et al.*, 2001; Whitt *et al.*, 2002; Liu and Burke, 2006). Thus, it can be assumed that CWR for most crop species may have retained genetic information before domestication and artificial selection. Linkage disequilibrium (LD) refers to the non-random association of alleles at different loci (SNPs). LD is a common variable in population genetics and evolutionary biology, used among others, to map quantitative trait loci, estimate effective population size and past founder events, or to detect genomic regions under selection (Lucek and Willi, 2021).

Both D' and r^2 statistics have been widely used to quantify LD, differing in how they are affected by marginal allele frequencies and small sample sizes. To identify SNPs significantly associated with phenotypic trait variation, r^2 is the most relevant LD measurement. In small populations, the effects of genetic drift result in the consistent loss of rare allelic combinations, which increase LD levels. When genetic drift and recombination are at equilibrium, $r^2 = 1/(1 + 4N_e c)$, where N_e is the effective population size and c is the recombination fraction between sites (Flint-Garcia *et al.*, 2003). N_e is one of the most important indicators in population genetics for describing the magnitude of genetic drift, inbreeding, and assessing genetic diversity. The smaller the effective population size, the faster the population will become

inbred and thus no longer respond to selection (Cobb *et al.*, 2019). N_e is an important parameter that helps to quantify the magnitude of genetic drift and inbreeding. Thus, it is highly recommended that breeders actively calculate and monitor N_e through successive breeding cycles to ensure the long-term viability of their breeding programs. Knowledge of N_e helps both, to design efficient selection and, if necessary, to modify parental combinations that maintain or increase genetic variation to ensure the identification of future superior candidates. In larger populations more recombination events occur for which it is expected to have lower levels of LD. N_e can be estimated by using both pedigree and marker data, however the latter is presently preferred (Wang, 2016). In practice, N_e is directly related to the effective number of loci (M_e), which can be defined as the number of independent loci that gives the same variance of realized relationship as obtained in the more realistic situation calculated by $M_e = (2N_e L) / \log(4N_e L)$, where L is the genome size in Morgan. A larger M_e (due to a larger N_e , L , or both) will require a proportionally larger number of markers to capture the relatedness structure of the population (Goddard, 2009; Wang, 2016).

If a true functional polymorphism contributes a fraction of the total trait variation, h^2_q , and has a LD value of r^2 with another SNP, then the trait variation that can be explained by this SNP will be $r^2 \times h^2_q$. A similar inference cannot be made using D' (Zhu *et al.*, 2008). Typically, r^2 values of 0.1 or 0.2 are used to describe the LD decay. For instance, in soybean, a mild decline in LD over distances as great as 50 kbp was described (Zhu *et al.*, 2003), whereas in rice it was found that LD approaches $r^2 = 0.10$ for distances from around 100 kbp (Garris *et al.*, 2003). In contrast, in maize and cultivated sunflower r^2 declines to <0.10 within around 1 kb (Remington *et al.*, 2001; Liu and Burke, 2006).

Measuring of the pattern and extent of LD are influenced by different factors such as mating type, genetic drift, gene flow, selection, mutation, population substructure and relatedness, and ascertainment bias (Flint-Garcia *et al.*, 2003). For instance, domestication can induce population bottlenecks producing higher levels of LD (slow decay). Similarly, the increase in homozygosity associated with self-fertilization reduces the effective recombination rate, resulting in elevated LD (rapid decay) across the genome (Nordborg, 2000) or localized around the targeted loci (Clark *et al.*, 2004). Conversely, gene flow and recombination are predicted to reduce LD (Slatkin *et al.*, 2008).

Association mapping and population structure

Investigating the magnitude of LD decay determines the resolution of association mapping (AM) and marker-assisted breeding for which studying the LD

pattern contribute to estimate the required numbers of SNPs. AM (also known as LD mapping) is a method of mapping quantitative trait loci (QTLs) using historical meiotic recombination events performed over several generations to associate phenotypes with genotypes in large germplasm populations. AM provides relevant information into the genetic basis of complex traits and is a valued approach to identify the genes underlying agronomically important traits. AM is based on the LD between molecular markers (SNPs) and functional loci, requiring detailed understanding of the pattern of LD. AM of a trait-associated allele is based on the slow decay of LD with closely linked markers (Slatkin *et al.*, 2008; Zhu *et al.*, 2008). For instance, resequencing of cultivated and wild soybeans showed that LD decayed relatively slowly; given the high LD, only a small subset of SNPs would be required for marker-assisted breeding. However, the high LD introduces limitations for association studies using genetic populations (Lam *et al.*, 2010).

Germplasm with a recombination history producing a limited gene flow can result in a structured breeding population with an uneven distribution of alleles across subgroups. Therefore, the use of AM in such stratified populations may lead to non-functional and spurious associations. However, statistical analysis that estimate the effects of population structure-induced linkage disequilibria allowed to expand the proper use of AM (Pritchard *et al.*, 2000).

The domestication of crops has generated new population structures, some of which were geographic. Crops moved from their center of origin to a wide range of environments, where natural selection drove genetic adaptation to the new ones. Equally important are the genetic structures associated with end-use or cultural preferences that lead to the increase of the frequency of favorable alleles. Although they might become fixed within populations, would still be polymorphic in worldwide collections of cultivars or landraces and should be characterized as QTL in mapping studies of diverse material (Hamblin *et al.*, 2011).

PRACTICAL APPLICATIONS OF DEEP GENOTYPING

As discussed, the application of deep genotyping data in the genetic characterization of a germplasm base is important to assess genetic diversity, genetic relatedness, and population structure, contributing to a better understanding of the materials included in a breeding program. One molecular breeding application requiring high-density markers is genomic selection (GS). Although it is not currently used routinely, its importance and consideration are clearly growing. The great advantage of GS use is the ability to accurately

select individuals of higher breeding value without the requirement of collecting phenotypes pertaining to these individuals. This can facilitate a shortening of the breeding cycle and enable rapid selection and intercrossing of early-generation breeding material.

GS consists of the prediction of the genomic estimated breeding value (GEBV) of individuals based on genomic data (Meuwissen *et al.*, 2001). Typically, is performed among the progeny of a biparental cross between two elite inbreds (breeding population) where phenotypes and genome-wide genotypes are investigated in the training population (a subset of the breeding population) to predict significant relationships between phenotypes and genotypes using statistical approaches. Marker effects estimated on the training population will be used to predict the performance of the best candidates in the rest of the breeding population solely based on GEBV (Daetwyler *et al.*, 2013; Heslot *et al.*, 2015). One question that arises is: how many SNP loci should be genotyped to achieve a reasonable prediction accuracy (e.g., 0.6 correlation between true breeding value and GEBV)? There is no single answer, however there are some aspects to consider that can bring us closer to it. Simulation studies showed that the relationships between the individuals in the training population and the individuals in the prediction population had a major impact on the accuracy of the GEBV. Accurate predictions could be obtained with a small number of markers (e.g., 300–500) and a small number of phenotypes (e.g., 200–1000) when the phenotypes were collected from closely related biparental populations. To generate accurate predictions from nominally unrelated individuals many more phenotypes (e.g., 20,000) and many more markers (e.g., 10,000) were required (Hickey *et al.*, 2014). GS provides tremendous opportunities to increase genetic gain in plant breeding. Early empirical and simulation results are promising, but for GS to work, consideration of the cost-benefit balance is needed.

Although deep genotyping allows for the identification of thousands of informative SNPs, most routine molecular breeding applications do not require such a large number of markers. Therefore, the selection of a subset of SNP markers suitable for the chosen breeding strategy and their conversion to a more cost-effective genotyping technology is recommended. Kompetitive Allele Specific PCR (KASP) is a user-friendly SNP platform that is cost efficient for smaller numbers of markers (<200) which is what is needed for marker-assisted recurrent selection, marker-assisted backcrossing, and quality control analysis. KASP is one of the uniplex SNP genotyping platforms that has evolved to be a global benchmark technology for conversion of selected SNP (Semagn *et al.*, 2014).

Practical applications that require around 200 markers include quality control analysis (genetic identity, genetic purity, and parentage verification), linkage mapping of

QTL, marker-assisted recurrent selection, and marker-assisted backcrossing.

Quality control

Control of the genetic purity (in terms of identity of the parental inbred lines and progeny testing of the resulting F_1 hybrids) is an essential quality control (QC) parameter in hybrid breeding, as maintaining high levels of genetic purity is critical to guarantee a robust and stable agronomic performance of the genotype. Genetic purity evaluation is also relevant to meeting the strict intellectual property requirements that govern plant breeding and variety registration in many countries (Chen *et al.*, 2016; Josia *et al.*, 2021). Genetic purity can be proved using different approaches such as grow out test, use of biochemical markers and use of molecular markers. The grow out test is based on the use of a set of morphological descriptors and the biochemical marker approach analyzes electrophoretic protein (isoenzymes) profiles. Molecular marker approaches detect the variation of genotypes directly at the DNA level and have several advantages including high polymorphism, high-throughput detection methods, and they are unaffected by environmental conditions or the physiological stage of the plant (Chen *et al.*, 2016; Josia *et al.*, 2021). The main purpose of routine QC genotyping is to identify contamination or mislabeling of germplasm during regeneration, seed increase or seed distribution. To achieve a cost-effective QC test, a balance between accuracy of detection and efficiency needs to be maintained, for which optimization of the balance between accuracy and cost is the main concern when choosing a set of markers for QC.

In maize, was proposed the use of two separate sets of markers, each focusing on different types of QC. The first was a broad QC focusing on identity of a sample employing a minimum of 80 KASP markers (which were selected based on MAF, coverage and chromosome distribution) to distinguish each of the entries from one another. It is important to conduct this type of QC before starting new breeding crosses to ensure the identity and purity of the founding parents and to evaluate the levels of residual heterogeneity within them. The second approach was rapid QC for seed production using a smaller sub-set of only ten selected KASP markers (Chen *et al.*, 2016).

QTL mapping and marker-assisted recurrent selection

The nature of a trait may sometimes suggest that much of the quantitative variation is controlled by a few genes with large effects. In this situation, the objective of QTL mapping is finding a few major QTL. The subsequent breeding strategy is to introduce or pyramid these QTL, via standard breeding procedures, into elite germplasm

to develop improved cultivars. Exploiting a few major QTL therefore requires both gene discovery (i.e., QTL mapping) and selection (Bernardo, 2008).

QTL mapping involves identification of a subset of markers that are significantly associated with one or more QTL influencing the expression of the trait of interest. The main steps in linkage-based QTL mapping include (1) selecting and/or developing appropriate bi-parental mapping populations; (2) phenotyping the population for the trait of interest under greenhouse and/or field conditions; (3) choosing the molecular marker system, genotyping the parents of the mapping population and F_1 with larger numbers of markers, and selecting markers exhibiting polymorphism between the parents; (4) choosing a genotyping approach (entire population, selective genotyping, or bulk segregant analysis) and generating molecular data for an adequate number of uniformly-spaced polymorphic markers; and (5) identifying the molecular markers associated with the QTL using statistical programs (Semagn *et al.*, 2010, 2014). There is no clear consensus regarding the number of markers demanded for genotyping bi-parental populations but depending on the species and its genetic map, most researchers use around 200 and 400 markers. Once a significant QTL is identified, a second round of genotyping can be performed by saturating the chromosome region with additional polymorphic SNPs around the QTL of interest (fine mapping). Chromosome position of the QTL will be established relative to closely spaced flanking SNPs, and these markers can potentially be used for marker assisted selection (MAS) of the QTL associated to the trait.

The nature of a trait may sometimes suggest that much of the quantitative variation is controlled by many genes with small effects. Two related approaches have been proposed and used to increase the frequency of favorable QTL alleles at multiple loci: (i) F_2 enrichment followed by inbreeding and (ii) marker-assisted recurrent selection (MARS) (Bernardo, 2008). MARS refers to the improvement of an F_2 population by one generation of phenotypic selection in the target set of environments followed by 2–3 generations of selection based on significant marker genotypes. MARS has been applied for improving a breeding population with respect to QTLs exerting smaller effects on the phenotype (Gokidi *et al.*, 2016).

In both approaches the base generation is usually an F_2 population from the cross between two inbreds, although backcrosses, three-way crosses, or double crosses may also be used. The objective is to develop a recombinant inbred with superior *per se* performance for self-pollinated crops or with superior testcross performance for hybrid crops. Whereas F_2 enrichment usually involves only one generation of marker-based selection, MARS involves several cycles of marker-based selection (Bernardo, 2008).

Marker-assisted backcrossing

Marker-assisted backcrossing (MABC) is used for transferring genes which are responsible for favorable agronomic traits from a donor line into the genome of a recipient (recurrent) line. Introgression of a QTL by successive backcrosses is used to improve elite lines (recurrent parent) by introducing alleles from exotic material (donor parent). Besides to maintain the donor allele at the QTL in the progenies, the process pursues two objectives: reduction of the size of the donor genetic background around the target locus, and recovery of the recurrent parent genetic background (Hospital, 2005).

In the absence of selection, the proportion of the donor genome decreases by half at each generation. Thus, it is expected that after five backcross generations (BC_5), 98.4% of recurrent parent background is recovered. However, since selection is for the donor allele at the QTL, elimination of the donor genome around that QTL will be much slower than in the rest of the genome. As a result, the proportion of the donor genome will decrease less for the chromosome carrying the target locus than for the others. This is the so-called linkage drag problem (Naveira and Barbadilla, 1992).

Marker-assisted selection (MAS) in introgression of favorable alleles at QTL usually comprises selection for presence of the donor allele at two markers delimiting the interval in which the putative QTL was detected, and the recurrent parent allele at markers outside the QTL interval (foreground selection). The use of tightly-linked flanking markers for recurrent parental alleles helps to decrease linkage drag more rapidly resulting in short donor chromosome segments attached to the target gene. To optimize the positions of a limited number of markers that flank the target locus was concluded that the larger the population, the closer the markers should be to the target locus (Frisch and Melchinger, 2005).

Marker distance and distribution for genome-wide background selection will impact significantly on the efficiency of MABC method. Contrary to common belief, high marker densities are not required. To efficiently identify the backcross individuals with the smallest percentage of donor genome, a marker distance of 10 cM is sufficient. Decreasing the marker distances below 10 cM had only marginal effect on the recipient genome recovery. One explanation for this result is that, in general, one crossing over by meiosis and chromatid occurs for each chromosome segment 1 M in length. In two- or three-generation backcrossing programs, the number of recombination events resulting in chromosome segments of different parental origin is therefore limited (Herzog and Frisch, 2011, 2013). Computer simulations were conducted to evaluate and optimize the resource requirements of conversion programs of different crop genetic models with chromosome numbers (from $n=7$ to $n=17$) demonstrating how MABC contributes to reduce

the time and costs demanded for gene introgression. The results showed that depending on the genome size of the crop of interest, recovering 10% quantile with 98% of recurrent background can be reached in BC_3 working with population sizes comprised between 10 to 30 individuals per generation and around two to three SNP markers per chromosome equally distributed across each linkage group (Herzog and Frisch, 2013). A further considerable reduction of the costs could be achieved if the population size in the first backcross generation is twice the population size in generations BC_2 and BC_3 of a three-generation backcrossing program (Herzog and Frisch, 2013).

CONCLUSIONS

One of the greatest challenges facing humanity is the development of sustainable strategies to ensure food availability in response to population growth and climate change. Different foresight studies have concurrently argued that current food production practices would not be sufficient and therefore a transformation of the food system is required. One approach that can contribute to increase food security is to close yield gaps and enhancing genetic gain, for which solutions based on multiple disciplines should be found. Among these, clearly the genetic improvement of crops and specifically molecular breeding plays a fundamental role.

There is no doubt that a crop breeding program is fundamentally based on the quality of the germplasm. However, if a detailed genetic characterization is not available, there is a risk of underusing genetic resources or delaying the development of superior varieties. As stated, deep genotyping is an essential tool for a comprehensive characterization of the germplasm of interest and, fortunately, the technology is now accessible at a reasonable cost. What must be ensured is the correct interpretation of the genotypic information and on that basis develop efficient crop breeding strategies that respond to the real needs of the breeding program.

REFERENCES

- Bailey-Serres J., Parker J.E., Ainsworth E.A., Oldroyd G.E.D., Schroeder J.I. (2019) Genetic strategies for improving crop yields. *Nature* 575: 109–118.
- Beckett T.J., Morales A.J., Koehler K.L., Rocheford T.R. (2017) Genetic relatedness of previously Plant-Variety-Protected commercial maize inbreds. *PLoS One* 12: e0189277.
- Bernardo R. (2008) Molecular markers and selection for complex traits in plants: Learning from the last 20 years. *Crop Sci.* 48: 1649–1664.

- Bohar R., Chitkineni A., Varshney R.K. (2020) Genetic molecular markers to accelerate genetic gains in crops. *Biotechniques* 69: 158–160.
- Buckler E.S., Thornsberry J.F., Kresovich S. (2001) Molecular diversity, structure and domestication of grasses. *Genet. Res.* 77: 213–218.
- Chen J, Zavala C, Ortega N, Petroli C, Franco J, Burgueño J, Costich DE, Hearne SJ. (2016) The development of quality control genotyping approaches: a case study using elite maize lines. *PLoS ONE* 11(6): e0157236. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157236>.
- Clark R.M., Linton E., Messing J., Doebley J.F. (2004) Pattern of diversity in the genomic region near the maize domestication gene *tb1*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 700–707.
- Cobb J.N., Juma R.U., Biswas P.S., Arbelaez J.D., Rutkoski J., Atlin G., Hagen T., Quinn M., Ng E.H. (2019) Enhancing the rate of genetic gain in public-sector plant breeding programs: lessons from the breeder's equation. *Theor. Appl. Genet.* 132: 627–645.
- Cooper M., Messina C.D., Podlich D., Totir L.R., Baumgartner A., Hausmann N.J., Wright D., Graham G. (2014) Predicting the future of plant breeding: complementing empirical evaluation with genetic prediction. *Crop Pasture Sci.* 65: 311–336.
- Darrier B., Russell J., Milner S.G., Hedley P.E., Shaw P.D., Macaulay M., Ramsay L.D., Halpin C., Mascher M., Fleury D.L., Langridge P., Stein N., Waugh R.A. (2019) Comparison of mainstream genotyping platforms for the evaluation and use of barley genetic resources. *Front. Plant Sci.* 10: 544. doi: 10.3389/fpls.2019.00544.
- Daetwyler H.D., Calus M.P.L., Pong-Wong R., de los Campos G., Hickey J.M. (2013) Genomic prediction in animals and plants: simulation of data, validation, reporting, and benchmarking. *Genetics* 193: 347–365.
- Dempewolf H., Baute G., Anderson J., Kilian B., Smith C., Guarino L. (2017) Past and future use of wild relatives in crop breeding. *Crop Sci.* 57: 1070–1082.
- Ellis D.; Chavez O.; Coombs J.; Soto J.; Gomez R.; Douches D.; Panta A.; Silvestre R.; Anglin N.L. (2018) Genetic identity in genebanks: Application of the SolCAP 12K SNP array in fingerprinting and diversity analysis in the global in trust potato collection. *Genome* 61: 523–537.
- Elshire R.J., Glaubitz J.C., Sun Q., Poland J.A., Kawamoto K., Buckler E.S., Mitchell S.E. (2011) A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS One* 6: e19379.
- Ertiro B.T., Semagn K., Das B., Olsen M., Labuschagne M., Worku M., Wegary D., Azmach G., Ogugo V., Keno T., Abebe B., Chibsa T., Menkir A. (2017) Genetic variation and population structure of maize inbred lines adapted to the mid-altitude sub-humid maize agro-ecology of Ethiopia using single nucleotide polymorphic (SNP) markers. *BMC Genomics* 18: 777. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4173-9>.
- FAO (1997) The state of the world's plant genetic resources for food and agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Flint-Garcia S.A., Thornsberry J.M., Buckler E.S. (2003) Structure of linkage disequilibrium in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 54: 357–374.
- Flint-Garcia S.A., Buckler E.S., Tiffin P., Ersoz E., Springer N.M. (2009) Heterosis is prevalent for multiple traits in diverse maize germplasm. *PLoS One* 4: e7433.
- Frascaroli E., Schrag T.A., Melchinger A.E. (2013) Genetic diversity analysis of elite European maize (*Zea mays* L.) inbred lines using AFLP, SSR, and SNP markers reveals ascertainment bias for a subset of SNPs. *Theor Appl Genet.* 126: 133–141.
- Frisch M., Melchinger A.E. (2005) Selection theory for marker-assisted backcrossing. *Genetics* 170: 909–917.
- Fu Y.-B., Cober E.R., Morrison M.J., Marsolais F., Peterson G.W., Horbach C. (2021) Patterns of genetic variation in a soybean germplasm collection as characterized with genotyping-by-sequencing. *Plants* 10(8): 1611. <https://doi.org/10.3390/plants10081611>.
- Garris A.J., McCouch S.R., Kresovich S. (2003) Population structure and its effects on haplotype diversity and linkage disequilibrium surrounding the *xa5* locus of rice (*Oryza sativa* L.). *Genetics* 165: 759–769.
- Goddard M. (2009) Genomic selection: prediction of accuracy and maximisation of long term response. *Genetica* 136: 245–257.
- Gokidi, Y., Bhanu, A. N., Singh, M. N. (2016) Marker assisted recurrent selection: an overview. *Adv. Life Sci.* 5: 6493–6499.
- Govindaraj M., Vetriventhan M., Srinivasan M. (2015) Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: an overview of its analytical perspectives. *Genet. Res. Int.* 2015: 431487. doi: 10.1155/2015/431487.
- Hamblin M.T., Buckler E.S., Jannink J.L. (2011) Population genetics of genomics-based crop improvement methods. *Trends Genet.* 27: 98–106.
- Heslot N., Jannink J.L., Sorrells M.E. (2015) Perspectives for genomic selection applications and research in plants. *Crop Sci.* 55: 1–12.
- Herzog E., Frisch M. (2011) Selection strategies for marker-assisted backcrossing with high-throughput marker systems. *Theor. Appl. Genet.* 123: 251–260.
- Herzog E., Frisch M. (2013) Efficient marker-assisted backcross conversion of seed-parent lines to cytoplasmic male sterility. *Plant Breeding* 132: 33–41.
- Hospital F. (2005) Selection in backcross programs. *Philos. Trans. R Soc. Lond. B Biol. Sci.* 360: 1503–11.
- Hickey J.M., Dreisigacker S., Crossa J., Hearne S., Babu R., Prasanna B.M., Grondona M., Zambelli A., Windhausen V.S., Mathews K., Gorjanc G. (2014) Evaluation of genomic selection training population designs and genotyping strategies in plant breeding programs using simulation. *Crop Sci.* 54: 1476–1488.
- Hickey L.T., Hafeez Amber N., Robinson H., Jackson S.A., Leal-Bertioli S.C.M., Tester M., Gao C., Godwin I.D., Hayes B.J., Wulff B.B.H. (2019) Breeding crops to feed 10 billion. *Nat. Biotechnol.* 37: 744–754.
- Ismail A.M., Horie T. (2017) Genomics, physiology, and molecular breeding approaches for improving salt tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 68: 405–434.
- Josia C., Mashingaidze K., Amelework A.B., Kondwakwenda A., Musvosvi C., Sibiya J. (2021) SNP-based assessment of genetic purity and diversity in maize hybrid breeding. *PLoS ONE* 16(8): e0249505. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249505>.
- Jeong N., Kim K.-S., Jeong S., Kim J.-Y., Park S.-K., Lee J.S., Jeong S.-C., Kang S.-T., Ha B.-K., Kim D.-Y., Kim N., Moon J.-K., Choi M.S. (2019) Korean soybean core collection: Genotypic and phenotypic diversity population structure and genome-wide association study. *PLoS One* 14: e0224074.
- Labroo M.R., Studer A.J., Rutkoski J.E. (2021) Heterosis and hybrid crop breeding: a multidisciplinary review. *Front. Genet.* 12: 643761. doi:10.3389/fgene.2021.643761.
- Lachance J., Tishkoff S.A. (2013) SNP ascertainment bias in population genetic analyses: why it is important, and how to correct it. *BioEssays* 35: 780–786.
- Lam H.M., Xu X., Liu X., Chen W., Yang G., Wong F.L., Li M.W., He W., Qin N., Wang B., Li J., Jian M., Wang J., Shao G., Wang J., Sun S.S., Zhang G. (2010) Resequencing of 31 wild and cultivated soybean genomes identifies patterns of genetic diversity and selection. *Nat. Genet.* 42: 1053–1059.
- Leitão S.T., Dinis M., Veloso M.M., Šatović Z., Vaz Pato M.C. (2017) Establishing the bases for introducing the unexplored portuguese common bean germplasm into the breeding world. *Front. Plant Sci.* 8: 1296. doi: 10.3389/fpls.2017.01296.
- Lenaerts B., Collard B.C.Y., Demont M. (2019) Improving global food security through accelerated plant breeding. *Plant Sci.* 287: 110207.

- Li H., Vikram P., Singh R.P., Kilian A., Carling J., Song J., Burgueno-Ferreira J.A., Bhavani S., Huerta-Espino J., Payne T., Sehgal D., Wenzl P., Singh S. (2015) A high density GBS map of bread wheat and its application for dissecting complex disease resistance traits. *BMC Genomics* 16: 216. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1424-5>.
- Liu A., Burke J.M. (2006) Patterns of nucleotide diversity in wild and cultivated sunflower. *Genetics* 173: 321–330.
- Lucek K., Willi Y. (2021) Drivers of linkage disequilibrium across a species' geographic range. *PLoS Genet.* 17: e1009477.
- Meuwissen T.H.E., Hayes B.J., Goddard M.E. (2001) Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157: 1819–1829.
- Milner S.G., Jost M., Taketa S., Mazon E. R., Himmelbach A., Oppermann M., Weise S., Knüpfer H., Basterrechea M., König P., Schüller D., Sharma R., Pasam R.K., Rutten T., Guo G., Xu D., Zhang J., Herren G., Müller T., Krattinger S.G., Keller B., Jiang Y., González M.Y., Zhao Y., Habekuß A., Färber S., Ordon F., Lange M., Börner A., Graner A., Reif J.C., Scholz U., Mascher M., Stein N. (2019). Genebank genomics reveals the diversity of a global barley collection. *Nat. Genet.* 51: 319–326.
- Mohammadi S.A., Prasanna B.M. (2003) Analysis of genetic diversity in crop plants – salient statistical tools and considerations. *Crop Sci.* 43: 1235–1248.
- Mondini L., Noorani A., Pagnotta M.A. (2009) Assessing plant genetic diversity by molecular tools. *Diversity* 1: 19–35.
- Naveira H., Barbadilla A. (1992) The theoretical distribution of lengths of intact chromosome segments around a locus held heterozygous with backcrossing in a diploid species. *Genetics* 1992: 130:205–209.
- Negro S.S., Millet E.J., Madur D., Bauland C., Combes V., Welcker C., Tardieu F., Charcosset A., Nicolas S.D. (2019) Genotyping-by-sequencing and SNP-arrays are complementary for detecting quantitative trait loci by tagging different haplotypes in association studies. *BMC Plant Biol.* 19: 318. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1926-4>.
- Nordborg M. (2000) Linkage disequilibrium, gene trees and selfing: an ancestral recombination graph with partial self-fertilization. *Genetics* 154: 923–929.
- Pavan S., Delvento C., Ricciardi L., Lotti C., Ciani E., D'Agostino N. (2020) Recommendations for choosing the genotyping method and best practices for quality control in crop genome-wide association studies. *Front. Genet.* 11: 447. doi: 10.3389/fgene.2020.00447.
- Pourkheirandish M., Golicz A.A., Bhalla P.L., Singh M.B. (2020) Global role of crop genomics in the face of climate change. *Front. Plant Sci.* 11: 922. doi: 10.3389/fpls.2020.00922.
- Pritchard J.K., Stephens M., Rosenberg N.A., Donnelly P. (2000) Association mapping in structured populations. *Am. J. Hum. Genet.* 67: 170–181.
- Rasheed A., Hao Y., Xia X., Khan A., Xu Y., Varshney R. K., He Z. (2017) Crop breeding chips and genotyping platforms: progress, challenges, and perspectives. *Mol. Plant.* 10: 1047–1064.
- Reif J.C., Melchinger A.E., Xia X.C., Warburton M.L., Hoisington D.A., Vasal S.K., Beck D., Bohn M., Frisch M. (2003) Use of SSRs for establishing heterotic groups in subtropical maize. *Theor. Appl. Genet.* 107: 947–957.
- Remington D.L., Thornsberry J.M., Matsuoka Y., Wilson L.M., Whitt S.R., Doebley J., Kresovich S., Goodman M.M., Buckler E.S. (2001) Structure of linkage disequilibrium and phenotypic associations in the maize genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 11479–11484.
- Sansaloni C., Franco J., Santos B., Percival-Alwyn L., Singh S., Petroli C., Campos J., Dreher K., Payne T., Marshall D., Kilian B., Milne I., Raubach S., Shaw P., Stephen G., Carling J., Pierre C.S., Burgueño J., Crosa J., Li H., Guzman C., Kehel Z., Amri A., Kilian A., Wenzl P., Uauy C., Banziger M., Caccamo M., Pixley K. (2020) Diversity analysis of 80,000 wheat accessions reveals consequences and opportunities of selection footprints. *Nat. Commun.* 11: 4572. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18404-w>
- Scheben A., Batley J., Edwards D. (2017) Genotyping-by-sequencing approaches to characterize crop genomes: choosing the right tool for the right application. *Plant Biotechnol. J.* 15:149–161.
- Semagn K., Bjørnstad, Å., Xu, Y. (2010) The genetic dissection of quantitative traits in crops. *Electron. J. Biotechnol.* 13: 16–17.
- Semagn K., Babu, R., Hearne, S.: Olsen M (2014) Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): overview of the technology and its application in crop improvement. *Mol. Breeding* 33: 1–14.
- Silva K.J., Pastina M.M., Guimarães C.T., Magalhães J.V., Pimentel L.D., Schaffert R.E., Pinto M.O., Souza V.F., Bernardino K.C., Silva M.J., Borém A., Menezes C.B. (2021) Genetic diversity and heterotic grouping of sorghum lines using SNP markers. *Sci. Agric.* 78: e20200039.
- Singh N., Wu S., Raupp W.J., Sehgal S., Arora S., Tiwari V., Vikram P., Singh S., Chhuneja P., Gill B.S., Poland J. (2019) Efficient curation of genebanks using next generation sequencing reveals substantial duplication of germplasm accessions. *Sci. Rep.* 9: 650. doi: 10.1038/s41598-018-37269-0.
- Slatkin M. (2008) Linkage disequilibrium—understanding the evolutionary past and mapping the medical future. *Nat. Rev. Genet.* 9: 477–485.
- Smith S., Bubeck D., Nelson B., Stanek J., Gerke J. (2015) Genetic diversity and modern plant breeding. In: Ahuja M., Jain S. (Eds.) *Genetic diversity and erosion in plants. Sustainable Development and Biodiversity.* Springer, Cham, pp. 55–88.
- Varshney R.K., Graner A., Sorrells M.E. (2005) Genomics-assisted breeding for crop improvement. *Trends Plant Sci.* 10: 621–630.
- Varshney R.K., Bohra A., Yu J., Graner A., Zhang Q., Sorrells M.E. (2021) Designing future crops: genomics-assisted breeding comes of age. *Trends Plant Sci.* 26: 631–649.
- Vendelbo N.M., Sarup P., Orabi J., Kristensen P.S., Jahoor A. (2020) Genetic structure of a germplasm for hybrid breeding in rye (*Secale cereale* L.). *PLoS One* 15: e0239541.
- Wang J. (2016) Pedigrees or markers: Which are better in estimating relatedness and inbreeding coefficient? *Theor. Popul. Biol.* 107: 4–13
- Whitt S.R., Wilson L.M., Tenaillon M.I., Gaut B.S., Buckler E.S. (2002) Genetic diversity and selection in the maize starch pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 12959–12962.
- Wu X., Li Y., Shi Y., Song Y., Wang T., Huang Y., Li Y. (2014) Fine genetic characterization of elite maize germplasm using high-throughput SNP genotyping. *Theor. Appl. Genet.* 127: 621–631.
- Xu S., Zhu D., Zhang Q. (2014) Predicting hybrid performance in rice using genomic best linear unbiased prediction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111: 12456–12461.
- Xu Y., Li P., Zou C., Lu Y., Xie C., Zhang X., Prasanna B.M., Olsen M.S. (2017) Enhancing genetic gain in the era of molecular breeding. *J. Exp. Bot.* 68: 2641–2666.
- Zambelli A. (2019) The impact of molecular genetics in plant breeding: realities and perspectives. *J. Basic Appl. Genet.* 30: 11–15.
- Zhao Y., Li Z., Liu G., Jiang Y., Maurer H.P., Wurschum T., Mock H.P., Matros A., Ebmeyer E., Schachschneider R., Kazman E., Schacht J., Gowda M., Longin C.F., Reif J.C. (2015) Genome-based establishment of a high-yielding heterotic pattern for hybrid wheat breeding. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 112: 15624–15629.
- Zhu C., Gore M., Buckler E.S., Yu J. (2008) Status and prospects of association mapping in plants. *Plant Genome* 1: 5–20.
- Zhu Y.L., Song Q.J., Hyten D.L., Van Tassell C.P., Matukumalli L.K., Grimm D.R., Hyatt S.M., Fickus E.W., Young N.D., Cregan P.B. (2003) Single-nucleotide polymorphisms in soybean. *Genetics* 163: 1123–1134.

CUESTIONES ÉTICAS EN LA PUBLICACIÓN CIENTÍFICA ETHICAL ISSUES IN SCIENTIFIC PUBLICATION

Elsa L. Camadro

DOI: 10.35407/bag.2023.34.01.01

En la *Nota del Editor* publicada en el Vol. XXIX (2): 25-27; 2018 (<https://doi.org/10.35407/bag.2018.29.02.01>), me referí a algunas cuestiones éticas y legales que entrañan los procesos de revisión de manuscritos científicos, las cuales se han ahondado con el acceso masivo a internet y la proliferación de publicaciones electrónicas. Dicha nota se focalizó en las distintas formas de plagio en las que pueden incurrir los autores, con frecuencia por simple desconocimiento. Pero también para los editores y los revisores –los otros actores del proceso editorial– se plantean cuestiones éticas que pueden afectar la calidad científica de las publicaciones y, en consecuencia, los avances en el conocimiento científico y sus aplicaciones.

Las editoriales y las revistas científicas operan bajo determinadas pautas (políticas editoriales) que sirven de base para la toma de decisiones, y que permiten controlar, agilizar y hacer más eficientes los pasos que conducen a la publicación de contenidos. Una de esas políticas editoriales es el Código de Conducta, en cuyo cumplimiento se tiene que asegurar la calidad científica de las publicaciones y la adecuada respuesta a las necesidades de lectores y autores. Más recientemente, y como requisito para la indexación de publicaciones periódicas en bases de datos bibliográficas serias, las revistas científicas deben publicar una Declaración de Ética y Negligencia, lo que pone de manifiesto la importancia que se le asigna a las buenas prácticas editoriales en la comunidad científica internacional. Dicha declaración debe indicar claramente cuál es el alcance de las responsabilidades y los derechos de editores, revisores, y autores, y las consecuencias que acarrearán las conductas indeseables.

Las cuestiones éticas que atañen a los autores fueron tratadas en la nota previamente mencionada. Por eso, en la presente me focalizaré en las cuestiones éticas o conflictivas que atañen a editores y revisores.

EDITOR

Ante la recepción de un manuscrito, el editor general puede tener que enfrentarse a alguna(s) de las siguientes situaciones: fabricación de datos, falsificación de datos, autoría fantasma (*ghost authorship*), autoría de regalo (*gift authorship*), publicación “sala-me” o segmentada, autocitaciones, envíos duplicados, publicaciones duplicadas, publicaciones superpuestas, conflictos de interés, plagio, entre otras. Algunas de estas cuestiones son autoexplicativas, por lo que me centraré en aquellas que considero que necesitan mayor aclaración. De todos modos, hay que tener en cuenta que algunos límites pueden ser borrosos y que algunas cuestiones potencialmente conflictivas pueden ser superadas si se encaran apropiadamente.

AUTORÍA

Si bien hay discrepancias entre disciplinas y áreas temáticas con respecto a quien puede ser autor de un manuscrito científico, los siguientes tipos de autoría constituyen faltas éticas o no son criterios aceptados de autoría:

1. **Autoría fantasma:** es la falta de inclusión de autores que contribuyeron sustancialmente al desarrollo del trabajo. Generalmente, los autores fantasma son personas de menor jerarquía que el autor principal (ej., tesis, becarios, profesores visitantes de otros países), quien desconoce el trabajo de otros o menosprecia las respectivas contribuciones (ej., recolección de datos) con el fin de obtener mayor crédito por su propio trabajo.
2. **Autoría de regalo:** es la inclusión de autores que no contribuyeron al trabajo o que no contribuyeron sustancialmente al mismo. En general, los autores

de regalo son investigadores de mayor jerarquía (ej., jefes de cátedra, directores de grupos o de institutos) o quienes proveyeron espacios físicos, equipamiento de laboratorio o financiación para realizar la investigación. También la inclusión de este tipo de autores puede deberse a que el autor principal tiene temor a represalias por parte de sus superiores si no lo hace, o a que la inclusión de investigadores reconocidos puede aumentar la probabilidad de aceptación de manuscritos. Se puede agradecer a estos investigadores en la sección correspondiente, pero las contribuciones mencionadas no son criterios de autoría.

3. **Autoría por contribuciones que no son científicas:** Los ilustradores científicos, redactores médicos y editores técnicos, entre otros, pueden hacer contribuciones sustanciales para aumentar la claridad, legibilidad y presentación de un manuscrito. Se les debe agradecer en la sección correspondiente, pero este tipo de contribución no es criterio de autoría.

En adición, es un comportamiento reñido con la ética de la publicación científica la inclusión de colegas para intercambiar o devolver favores o para aumentar el número de publicaciones a fin de ganar prestigio personal o incrementar la competitividad en la obtención de subsidios y promociones en la carrera. Por lo tanto, esta práctica debería desalentarse desde las agencias o instituciones de evaluación.

ENVÍO DE MANUSCRITOS

Envíos duplicados: cuando se realiza este tipo de envíos se pueden generar desacuerdos potenciales sobre el derecho a publicar entre las revistas que los procesaron y aceptaron. Algunas revistas solicitan que, en el momento del envío, el autor para correspondencia declare que el manuscrito no se encuentra en evaluación en ninguna otra revista. Si ese no fuera el caso, se iniciaría el proceso editorial en dos o más revistas, generando duplicaciones innecesarias en la revisión y edición, con la consecuente pérdida de tiempo y recursos para revisores y editores.

PUBLICACIONES

Seguidamente describiré los tres tipos más frecuentes de publicaciones conflictivas o que contravienen los principios éticos de la publicación científica.

1. **Publicación “salame” o segmentada:** es la publicación de dos o más artículos que se derivaron de un solo estudio con un solo juego de datos, el que ha sido dividido en varios segmentos, cada uno de ellos lo suficientemente extenso como para contener resultados y conclusiones (“unidad mínima de publicación”). Es una forma distintiva de publicación redundante. Se

caracteriza por la similitud de hipótesis, metodologías o resultados, pero no se detecta objetivamente con aplicaciones de *software* porque los artículos tienen una redacción diferente. Se consideran excepciones (a) la publicación de los artículos en revistas dirigidas a audiencias diferentes (ej., revistas científicas y revistas de divulgación científica, o para lectores de diferentes campos de especialización), (b) la continuación de investigaciones previamente publicadas, siempre que se provean nuevos conocimientos científicos y se declare la fuente, (c) la traducción de guías profesionales en diferentes idiomas.

2. **Publicación duplicada:** se considera que un artículo es redundante cuando sustancialmente se superpone con otro artículo previamente publicado. Las publicaciones duplicadas no son éticas porque (a) sólo benefician al autor, (b) distorsionan el sistema de recompensas académicas, (c) inflan la literatura científica, (d) pueden contribuir a metaanálisis defectuosos y afectar la toma de decisiones. Además, el procesamiento entraña una pérdida de tiempo para revisores y editores, se utilizan recursos de la revista para publicar información que ya está disponible, y se incrementa el trabajo de abstracción en las bases de datos bibliográficos.
3. **Publicaciones secundarias:** pueden ser aceptables para ciertos tipos de papeles científicos (ej., guías, traducciones, fascículos conmemorativos). Para que no se incurra en cuestiones éticas (a) los editores de las revistas involucradas tienen que estar de acuerdo en realizar este tipo de publicación, (b) la citación de la publicación primaria tiene que ser prominente, (c) la publicación secundaria tiene que estar dirigida a otra audiencia y debe reflejar fielmente los datos e interpretaciones de la versión primaria.

REVISORES

Un manuscrito en revisión es una comunicación de privilegio que, como tal, no debe mostrarse ni describirse a nadie, excepto al que solicitó la opinión para alcanzar la decisión editorial. De hecho, algunas revistas o instituciones científicas solicitan a los revisores la destrucción del material evaluado.

El nombre de un revisor asociado a una revisión es una certificación de que las ideas expresadas en la revisión son propias. No obstante, algunos revisores solicitan a sus estudiantes graduados que realicen la evaluación para la que ellos fueron convocados. Este procedimiento, que algunos investigadores pueden considerar de buena fe que es formativo para los estudiantes, plantea cuestiones éticas porque (a) la opinión no se solicitó a los estudiantes, (b) se violó el principio de confidencialidad, y (c) al firmar la evaluación, se da fe de un acto que no se realizó.

Ser o parecer: Conflictos de interés

Para asegurar la calidad científica de las publicaciones, los revisores deben ser convocados por idoneidad en el tema o área temática del manuscrito a evaluar, honestidad intelectual e independencia de pensamiento. Para garantizar la objetividad de la revisión es fundamental evitar los conflictos de interés en su elección (al igual que en la elección, por parte del editor general, del editor asociado que gestionará el envío).

Se plantean conflictos de interés cuando el revisor y el autor (a) son “competidores” en la disciplina o tema del trabajo a evaluar, (b) tienen alguna conexión financiera, (c) pertenecen a la misma institución, (d) son amigos personales, estudiante-profesor, pareja/esposos, jefe anterior-dirigido. Algunas revistas científicas o instituciones solicitan al revisor que declare posibles conflictos de interés y, ante alguno, si se considera capaz de realizar una revisión objetiva. En caso afirmativo, la respuesta del revisor tiene carácter de declaración jurada.

pitfalls and solutions for editors. Rev Saude Publica. 2006 Aug; 40 Spec no.:24-9. Doi: 10.1590/s0034-89102006000400004. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16924299> (Consultado: 20 de marzo de 2023)

International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE): <https://www.icmje.org>

Elsa L. Camadro

Editor General

RESPONSABILIDAD DEL EDITOR

El editor general también puede incurrir en faltas éticas si no sigue el debido proceso editorial con los envíos, cumpliendo voluntariamente con las normas establecidas en las principales guías internacionales sobre buenas prácticas editoriales. Entre estas faltas se pueden citar (a) demoras indebidas en la toma de decisiones y en la comunicación a los autores, (b) utilización de procedimientos inadecuados de revisión y para la toma de decisiones, y (c) confusión entre el contenido de la revista y el potencial de dicha revista para publicidad o promoción. Asimismo, el editor general debe emprender acciones específicas ante situaciones éticamente cuestionables o conflictivas que involucren a autores, revisores, o integrantes del Comité Editorial, porque su responsabilidad es asegurar la calidad científica de los contenidos que se publican y el debido reconocimiento a las contribuciones individuales. No obstante, hay situaciones cuya resolución está por fuera del alcance del editor general. En esos casos, resta esperar que el escrutinio público sea fuertemente disuasorio de los comportamientos poco éticos. Para ello, es fundamental que todos los actores del sistema conozcan, comprendan y utilicen las guías consensuadas sobre ética en la publicación científica, de modo de no incurrir involuntariamente en procedimientos conflictivos o éticamente cuestionables o reprobables.

Boss J.M. (2010) The Ethics of Scientific Publishing. In: Dos and Don'ts for Authors and Reviewers, p.8-10. Reprinted from AAI Newsletter November 2009-May 2019. www.aai.org/AAISite/media/Publications/AAI_Do_Donts (Consultado: 20 de marzo de 2023)

Committee on Publication Ethics (COPE): <https://publicationethics.org>

Gollogly L, Momen H. (2006) Ethical dilemmas in scientific publication:

In the *Note from the Editor* published in Vol. XXIX (2): 25-27; 2018 (<https://doi.org/10.35407/bag.2018.29.02.01>), I referred to some ethical and legal issues that entail the revision of scientific manuscripts, which have been deepened by the massive access to the internet and the proliferation of electronic publications. That note made focus on the different forms of plagiarism authors may incur, frequently as a result of a simple lack of knowledge. But also for editors and reviewers –the other actors of the editorial process– ethical issues are posed, which can affect the scientific quality of the publications and, as a consequence, the advancement in scientific knowledge and its applications.

Scientific editorials and journals operate under given guidelines (editorial policies) that serve as a base for making editorial decisions, and which allow to control, speed up, and increment the efficiency of the steps that lead to the publication of contents. One of these editorial policies is the Code of Conduct, in which compliance with the scientific quality of publications and the adequate answer to the needs of readers and authors have to be ensured. More recently, and as a requisite for indexation of serial publications in bibliographic databases, scientific journals must publish a Declaration of Ethics and Negligence; this requisite reveals the importance assigned to the editorial practices by the international scientific community. Such a declaration must indicate the scope of the responsibilities and rights of editors, reviewers, and authors, and the consequences that undesirable behaviors carry along.

Some conflictive and ethical issues related to the authors were treated in the previously mentioned *Note from the Editor*. Therefore, in the present note, I will place focus on the same type of issues but concerning editors and reviewers.

EDITOR

Upon the reception of a manuscript, the general editor may have to face some of the following issues: data fabrication, data falsification, ghost authorship, gift authorship, “salami” or segmented publications, self-citations, duplicated submissions, duplicated publications, overlapping publications, conflicts of interest, plagiarism, among others. Some of these issues are self-explicative, thus, I will focus on those that I consider require further clarification. Nonetheless, it has to be taken into account that some limits are blurred and that potentially conflictive matters might be overcome when appropriately approached.

AUTHORSHIP

Even though there are discrepancies among disciplines and thematic areas regarding who can be an author of a

scientific manuscript, the following types of authorship are considered unethical or are not accepted criteria of authorship.

1. **Ghost authorship:** it is the lack of inclusion of authors that substantially contributed to the development of the work. In general, ghost authors are hierarchically in a lower position than the principal author (i.e., thesis students, graduate fellows, visiting professors from other countries), who either ignore the work of others or despise their respective contributions (i.e. data collection) to obtain a larger credit for his/her work.
2. **Gift authorship:** it is the inclusion of authors that did not either contribute to the work or substantially contribute to it. In general, gift authors are researchers hierarchically superior to the principal author (i.e., heads of a chair, directors of research groups or institutes) who provided space facilities, laboratory equipment, or financial support for performing the research work. The principal author may fear retaliation if not including his/her superiors or considers that the inclusion of renowned researchers might increase the probability of acceptance of the manuscript. These contributions can be acknowledged in the corresponding section, but are not criteria of authorship.
3. **Authorship for non-scientific contributions:** Scientific illustrators, medical writers, and technical editors, among others, can make substantial contributions to augment manuscript clarity, readability, and general presentation. Their work can be acknowledged in the corresponding section, but this type of contribution is not a criterion of authorship.

Furthermore, it is unethical behavior to include colleagues to interchange or return favors to increment the number of publications for gaining personal prestige or increasing competitiveness in the obtainment of financial support or career promotions. Therefore, this practice should be discouraged by evaluation agencies and institutions.

MANUSCRIPT SUBMISSION

Duplicated submission. This type of submission can generate potential disagreements between scientific journals concerning the right to publish a manuscript that has been processed and already accepted by them. Some journals require a statement from the corresponding author informing that the manuscript is not under evaluation in any other journal. If it were the case, the editorial process would be initiated in more than one journal, generating unnecessary duplications in the processes of revision and edition, with the consequent loss of the reviewers' and editors' time and resources.

PUBLICATIONS

Following, I will describe the three most frequent types of conflictive or unethical scientific publications.

1. **“Salami” or segmented publication.** It is the publication of two or more articles derived from a single study with only one dataset, which has been divided into several segments, each of them long enough to contain results and conclusions (“minimum publication unit”). It is a distinctive form of redundant publication. It is characterized by the similarity of hypothesis, methodologies, or results, but it is not objectively detected with software applications because the articles have different wording. The following are considered exceptions (a) publication of the articles in journals aimed at different audiences (i.e., scientific journals and popular science magazines, or for readers of different fields of specialization), (b) the continuation of previously published investigations, only if new scientific knowledge is provided and the source is declared, (c) the translation of professional guides in several languages.
2. **Duplicated publications.** An article is considered redundant when it substantially overlaps with a previously published article. Duplicated publications are unethical because they (a) only benefit the author, (b) distort the system of academic rewards, (c) inflate the scientific literature, and (d) may contribute to defective meta-analyses and affect decision-making. Moreover, the editorial processing entails a waste of time for reviewers and editors, journal resources are used to publish already available information and the abstracting work in bibliographic databases is increased.
3. **Secondary publications.** They can be acceptable for certain types of scientific papers (i.e., guides, translations, commemorative numbers). To not incur ethical issues, (a) the editors of the involved journals have to agree in carrying out this type of publication, (b) the citation of the primary publication has to be prominent, (c) the secondary publication has to be aimed at another audience and must faithfully reflect the data and the interpretations of the primary version.

REVIEWERS

A manuscript under revision is a privileged communication which, as such, must not be either shown or described to anybody, except to those who asked for the opinion to reach an editorial decision. Some scientific journals or institutions request reviewers to destroy the evaluated material.

The name of a reviewer associated with a revision is a certification that the ideas expressed in the revision are his/her own. Notwithstanding, some reviewers ask their graduate students to perform the evaluation for which they had been summoned up. This procedure, which in good faith may be considered formative for the students, poses ethical issues because (a) the opinion was not requested from the students, (b) the principle of confidentiality was violated, and (c) by signing the evaluation, the reviewer gives attest to an act that he/she did not perform.

To be or seem: Conflicts of interest

To ensure the scientific quality of publications, reviewers have to be summoned up according to the suitability of their background for the topic or thematic area of the manuscript, intellectual honesty, and independence of thought. To guarantee the objectivity of the revision, it is essential to avoid conflicts of interest in their selection. (similar to the selection –by the general editor– of the associate editor that will handle the submission).

Conflicts of interest are posed when the reviewer and the author: (a) are competitors in the discipline or the topic of the manuscript, (b) have a financial connection, (c) belong to the same institution, (d) are personal friends, student-professor, married or unmarried couple, previous boss-directed employee. Some scientific journals or institutions request the reviewer to declare any conflict of interest and, if any, if he/she considers that the revision would be objective. If positive, the reviewer’s answer has the character of a sworn declaration.

RESPONSIBILITY OF THE EDITOR

The general editor may also incur ethical faults if the due editorial process is not followed with the submissions, voluntarily complying with the norms established in the principal international guides. Among these faults, the following can be cited (a) undue delays in making editorial decisions and communicating them to the authors, (b) utilization of inadequate procedures for revision and decision-making, and (c) confusion between the journal’s content and the journal’s potential for publicity or promotion. In addition, the editor must take specific actions when confronted with ethical questionable, or conflictual issues involving authors, reviewers, or members of the Editorial Board because his/her responsibility is to ensure the scientific quality of the published contents and the due recognition to the individual contributions. Nevertheless, there are issues whose resolution is beyond the general editor’s scope. In these situations, it can only be expected that public scrutiny will be a strong deterrent to unethical behaviors. For this, it is essential that all actors of the system

know, comprehend and utilize agreed guidelines on ethics in scientific publication, to not voluntarily incur conflictual, ethically questionable, or reprehensible behaviors.

Boss J.M. (2010) The Ethics of Scientific Publishing. In: Dos and Don'ts for Authors and Reviewers, p.8-10. Reprinted from AAI Newsletter November 2009-May 2019. www.aai.org/AAISite/media/Publications/AAI_Do_Donts (Accessed: 20 March 2023)

Committee on Publication Ethics (COPE): <https://publicationethics.org>

Gollogly L, Momen H. (2006) Ethical dilemmas in scientific publication: pitfalls and solutions for editors. *Rev Saude Publica*. 2006 Aug; 40 Spec no.:24-9. Doi: 10.1590/s0034-89102006000400004. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16924299> (Accessed: 20 March 2023)

International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE): <https://www.icmje.org>

Elsa L. Camadro

General Editor

—

BAG

**Journal of Basic
& Applied Genetics**