

RESUMEN

La producción de haploides y haploides duplicados es una herramienta empleada en una gran cantidad de especies que permitiría acortar sustancialmente el tiempo requerido para la obtención de nuevos individuos homocigotas. El desarrollo y la optimización de nuevas tecnologías en este sentido es de gran interés para el avance en investigación básica así como para acelerar programas de mejoramiento genético vegetal. En el presente trabajo se evaluó la producción de plantas potencialmente haploides de maíz (*Zea mays* L.) para su utilización en programas de mejoramiento e investigación genética. Se trabajó con la técnica de inducción de potencialmente haploides *in vivo* mediante el empleo de polinizadores inductores de haploidía. Estos polinizadores se destacan por su aptitud de generar un número significativo de granos potencialmente haploides al fecundar distintos parentales femeninos. Se utilizaron cinco polinizadores y se evaluó su capacidad para la inducción de granos potencialmente haploides *in vivo* en porcentaje. La capacidad de inducción de plantas potencialmente haploides de los diferentes polinizadores fue cuantificada en diferentes ambientes de cultivo de los parentales y utilizando diferente germoplasma como progenitor femenino. Los experimentos se realizaron en 4 ambientes, a saber, Venado Tuerto, en dos fechas de siembra (VT1, VT2), Balcarce y Rancagua (Chile).

La detección de granos potencialmente haploides se basó en la expresión de un gen marcador de color, *R-nj* (Rojo navajo), tanto en endosperma como en embrión. Dicho marcador permite seleccionar aquellos embriones en los cuales la fecundación no tuvo lugar. La ausencia de coloración en el embrión indica la ausencia de fecundación, evidenciando la condición haploide materna de dicho individuo. No obstante la

presencia de inhibidores de color estaría afectando dicha expresión en algunos de los germoplasmas evaluados en este trabajo.

Se lograron identificar polinizadores inductores de haploidía con comportamiento estadísticamente superior. Dicha capacidad fue corroborada en diferentes ambientes sin encontrarse interacción entre los mismos. Los polinizadores inductores HIND 2 (X1-B1/G3-64) y HIND 4 (M4-B3/G3-64) presentaron porcentajes de inducción de haploides potenciales superiores al 8%.

En este estudio los valores más elevados de inducción fueron registrados en el ambiente de Balcarce (13,8%).

El ambiente en el cual se realiza la polinización es una fuente de variabilidad que debe considerarse en el momento de implementar la técnica de obtención de individuos potencialmente haploides. La técnica de obtención de haploides de maíz *in vivo* optimizada en esta tesis permite la obtención de estimativamente 10 granos potencialmente haploides a ser duplicados por cada 100 granos obtenidos en el cruzamiento de inducción. Esta relación permite una aplicación directa en programas de mejoramiento de maíz comerciales.

ABSTRACT

The production of haploids and double haploids is a widely used strategy in many species allowing the reduction of the time to the generation of a complete homocigous individual.

The development and optimization of new technologies is of mayor interest for the basic research and to hasten processes in breeding programs.

In the present work maize (*Zea mays* L.) haploid plants production for breeding and research purposes was evaluated. The *in vivo* haploid induction technique was performed by using male haploid inducers. Five haploid inducers were tested in their ability to generate haploid kernels. The inducer pollinators were selected for their ability to generate a significant number of haploid kernels over different females pollinated.

The induction of haploid plants was tested for the different pollinators as affected by parental growing environment and female germplasm. Female parental material and inducers were planted in Venado Tuerto, two sowing dates (VT1, VT2), Balcarce and Rancagua (Chile).

Haploid kernels detection was based on the expression of color markers, *R-nj*, in endosperm and embryo. Such marker allows the selection of embryos in which fertilization was not effective. The lack of color on embryo is an evidence for incomplete fecundation, leading to a putative maternal haploid kernel. However the presence of color inhibitors in some of the female germplasms evaluated in this work may be affecting the expression of the markers.

It was possible to identify haploid inducers with statistically superior performance. There was no interaction between inducers and the environments tested in this work.

The maternal haploid inducers HIND 2 (X1-B1/G3-64) and HIND 4 (M4-B3/G3-64) presented haploid induction rates over 8%.

In the present evaluation the highest induction rates were obtained in Balcarce environment (13.8 %).

The environmental condition in which pollination takes place is a source of variability that must be taken into consideration while developing the *in vivo* haploid induction technique.

This maize haploid *in vivo* process produces c.a. 10 haploids to be doubled per 100 kernels obtained in the crossing between the inducers and the female parents. This efficiency rate is large enough for a direct application in commercial maize breeding programs.