

TESIS DE DOCTORADO

**MEJORA GENÉTICA DE MAÍZ
PARA SENESCENCIA
RETRASADA "STAY GREEN"**

Marlon Brainer Caicedo Villafuerte

ESCUELA DE DOCTORADO EN CIENCIAS

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS AGRÍCOLAS Y MEDIOAMBIENTALES

SANTIAGO DE COMPOSTELA / LUGO

2018

RESUMEN

La senescencia retrasada o “Stay Green” (SG) es un carácter deseable para la producción de los cultivos y está asociado con la producción de biomasa, resistencia al encamado y rendimiento de grano. Además, es probable que esté correlacionado con la tolerancia a bajo nitrógeno (N); sin embargo, no existe mucha información al respecto en el cultivo de maíz. Tanto los estudios fisiológicos como los estudios genéticos sobre senescencia se han realizado en un escaso número de genotipos, obteniéndose conclusiones parciales. Por tanto, esta investigación profundizó en los mecanismos genéticos y fisiológicos relacionados con la senescencia en maíz, para lo cual se propuso como principal objetivo el estudio a nivel fisiológico y genético de la senescencia en maíz templado. Para cumplir con este objetivo se realizaron tres experimentos por separado. El primero, consistió en la caracterización multiambiental de la senescencia en líneas élite de diferente precocidad, para caracteres fisiológicos y agronómicos relacionados con el proceso de senescencia y el rendimiento de grano y biomasa. En el segundo, se detectaron QTL asociados a la senescencia mediante mapeo de asociación en una población multiparental (MAGIC); y, en el tercero se detectaron genes relacionados con la senescencia, mediante el estudio de la expresión génica de líneas puras de maíz.

De acuerdo con los resultados obtenidos en el primer estudio, se concluyó que la duración de la actividad fotosintética varió entre líneas y el SG funcional fue el tipo predominante en las líneas puras de maíz templado. Además, la mayor duración de la actividad fotosintética reveló incrementos en el rendimiento de grano y biomasa, así como también, en la duración del llenado de grano y en la humedad del grano y biomasa.

Los resultados del mapeo de asociación en la población multiparental revelaron que el carácter SG está controlado por múltiples genes de efecto menor y que el gen Zm00001d043586 fue particularmente importante, ya que explica las diferentes velocidades a las que sucede la senescencia.

El estudio de la expresión génica, reveló que a nivel transcriptómico, hay una extensa red de genes que interactúan conjuntamente, los cuales están activando, reprimiendo y/o produciendo sinergismo o antagonismo en las diferentes funciones en las que están involucrados, durante la etapa de la senescencia. Se identificaron 1083 genes que aumentan (*up regulated*) y 588 genes que disminuyen (*down regulated*) su expresión durante la senescencia en todas las líneas evaluadas. Los genes *down regulated*, estuvieron involucrados principalmente en la fotosíntesis, mientras que, los genes *up regulated* estuvieron relacionados con procesos catabólicos. Además, un subconjunto de 196 genes diferencialmente expresados codificó para factores de transcripción y algunos de ellos son homólogos a factores de transcripción encontrados en Arabidopsis.

Desde el ámbito de la mejora de cultivos, se llegó a la conclusión de que mediante la modificación del tiempo de senescencia se podría mejorar la producción de grano, forraje y/o bioenergía. Mientras que, a nivel molecular existen genes claves involucrados en el proceso de senescencia que podrían ser utilizados para aumentar la eficacia de la mejora vegetal.

RESUMO

A senescencia retrasada ou “Stay Green” (SG) é un carácter desexable para a produción dos cultivos e está asociado coa produción de biomasa, resistencia o encamamento e rendemento do gran. Ademais, é probable que estea correlacionado coa tolerancia a baixo nitróxeno (N); sen embargo, non existe moita información ao respecto no cultivo do millo. Tanto os estudos fisiolóxicos coma os estudos xenéticos sobre senescencia realizáronse nun número baixo de xenotipos, obténdose conclusións parciais. Polo tanto, esta investigación profundou nos mecanismos xenéticos e fisiolóxicos relacionados coa senescencia no millo, para o cal propúxose como principal obxectivo o estudo, a nivel fisiolóxico e xenético, da senescencia no millo temperado. Para cumprir con este obxectivo realizáronse tres experimentos por separado. O primeiro, consistiu na caracterización multiambiental da senescencia en liñas elite de diferente precocidade, para caracteres fisiolóxicos e agronómicos relacionados co proceso da senescencia e o rendemento do gran e biomasa. No segundo, detectáronse QTL asociados a senescencia mediante mapeo de asociación nunha poboación multiparental (MAGIC); e, no terceiro detectáronse xenes relacionados coa senescencia, mediante o estudo da expresión xénica de liñas puras de millo.

Segundo isto os resultados obtidos no primeiro estudo, conclúese que a duración da actividade fotosintética variou entre liñas e o SG funcional foi o tipo predominante nas liñas puras de millo temperado. Xunto con isto, a maior duración da actividade fotosintética revelou incrementos no rendemento do gran e biomasa, así como tamén, na duración do enchido do gran e na humidade do gran e biomasa.

Os resultados do mapeo de asociación na poboación multiparental, revelaron que o carácter SG está controlado por múltiples xenes de efecto menor e que o xen Zm00001d043586 foi particularmente importante, xa que explica as diferentes velocidades ás que acontece a senescencia.

O estudo da expresión xénica, revelou que a nivel transcriptómico, hai una extensa rede de xenes que interactúan conxuntamente, os cales están activando, reprimindo e/ou producindo sinerxía ou antagonismo nas diferentes funcións nas que están involucrados, durante a etapa da senescencia. Identificáronse 1083 xenes que aumentan (*up regulated*) e 588 xenes que diminúen (*down regulated*) a súa expresión durante a senescencia en todas as liñas avaliadas. Os xenes *down regulated*, estiveron involucrados principalmente na fotosíntese, mentres que, os xenes *up regulated* relacionáronse cos procesos catabólicos. Ademais, un subconxunto de 196 xenes expresados de xeito diferencial codificou para factores de transcrición e algún deles son homólogos a factores de transcrición encontrados en Arabidopsis.

Dende o campo da mellora de cultivos, chegouse a conclusión que mediante a modificación do tempo de senescencia poderíase mellorar a produción do gran, forraxe e/ou bioenerxía. Mentres que a nivel molecular existen xenes claves involucrados no proceso de senescencia que poderían ser utilizados para aumentar a eficacia da mellora vexetal.

ABSTRACT

Delayed senescence or "Stay Green" (SG) is a desirable trait for crop production and it is associated with biomass production, lodging resistance, and grain yield. In addition, it is probably correlated with low nitrogen (N) tolerance; however, there is not much information about this in maize. Both physiological and genetic studies about senescence have been conducted in a small number of genotypes, resulting in partial conclusions. Therefore, this investigation deepened, in the genetic and physiological mechanisms related to senescence in maize, for what we proposed as main objective: to study at the physiological and genetic levels the senescence in temperate maize. In order to achieve this objective, three separate experiments were carried out. The first consisted in the multi-environmental characterization of senescence in elite lines of different precocity, for physiological and agronomic traits related to the senescence process, as well as, grain and biomass yield. In the second, QTL associated with senescence was detected by association mapping in a multi-parent population (MAGIC); and, in the third, genes related to senescence were detected, through the study of gene expression in maize inbred lines.

According to the results obtained in the first study, it was concluded that the duration of the photosynthetic activity varied between lines and the functional SG was the predominant type in the temperate maize inbred lines. Additionally, the longest duration of the photosynthetic activity revealed increases in the grain and biomass yield, duration of the grain filling and in the grain moisture and biomass.

The results of association mapping in the multi-parent population revealed that SG trait is controlled by multiple genes of minor effect and that the gene Zm00001d043586 was particularly important since it explains the different rhythms of speed with which senescence occurs.

The gene expression study, revealed that at transcriptomic level, there is an extensive genes' network that interact together, which are activating, repressing and/or producing synergism or antagonism in the different functions in which they are involved, during the senescence stage. We identified 1083 genes that increase (*up regulated*) and 588 genes that decrease (*down regulated*) their expression during senescence in all lines evaluated. *Down regulated* genes were mainly involved in photosynthesis, while the *up regulated* genes were related to catabolic processes. In addition, a subset of 196 differentially expressed genes codified for transcription factors and some of them are homologous to transcription factors found in Arabidopsis.

From the ambit of crop breeding, it was concluded that by modifying the time of senescence the grain, forage and/or bioenergy production could be improved. While at the molecular level there are key genes involved in the senescence process that could be used to increase the plant breeding effectiveness.