

# ESTUDIOS DE VARIABILIDAD GENÉTICA EN MAÍZ PISINGALLO (*Zea mays* L. var. *Everta*) PARA ASOCIAR VALORES DE MEJORA A MARCADORES MOLECULARES

Alessandri, E.C.<sup>1\*</sup>; Schrauf, G.<sup>2</sup>; Andrés, A.N.<sup>3</sup>; Eyherabide, G.<sup>3</sup>; Schrauf, M.F.<sup>4</sup>; Shaw, C.E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Speciosa SA

<sup>2</sup> Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires

<sup>3</sup> Escuela de Posgrado, Universidad del Noroeste de Buenos Aires

<sup>4</sup> Animal Breeding and Genomics, Wageningen University and Research

\*E-mail: esteban.alessandri@speciosa.com.ar

## INTRODUCCIÓN

El maíz pisingallo (*Zea mays* L. var. *Everta*) es una especialidad en el cultivo de maíz destinado exclusivamente al consumo humano como snack dada la capacidad de sus granos de expandir cuando son calentados (Senhorinho et al., 2019). Al producto resultante de la expansión se le da el nombre de palomita, pochoclo, pipoca, popcorn, etc. El producto se divide en dos grupos según el resultado del proceso de cocción: i) butterfly, que produce una roseta esponjosa con alas que se proyectan desde el centro hacia la periferia; y ii) mushroom o caramel, que produce una roseta compacta y redondeada (De Bernardi, 2016).

Cada especialidad tiene caracteres propios que requieren especial énfasis, pero el germoplasma básico y los métodos de mejoramiento usados para maíz amarillo dentado, son usualmente usados para el avance genético de las especialidades (Hallauer, 2000). En el caso particular del maíz pisingallo, los híbridos tienen una performance sub-óptima y son genéticamente limitados en comparación con los híbridos de maíz "commodity", incluyendo tipos flint, semidentados y dentados (Parsons et al., 2020; Senhorinho et al., 2019). Esto se debe en gran medida al esfuerzo diferencial puesto en los programas de mejoramiento de uno y otro tipo de maíz. Para achicar esa brecha productiva, es común realizar cruzas entre líneas pisingallo y líneas flint, semidentadas o dentadas, aunque se reporta que los avances son limitados y frecuentemente se pierde la capacidad de expansión (Parsons et al., 2020; Senhorinho et al., 2019).

Estudios genéticos determinaron que la expansión es un carácter predominantemente aditivo, con alta heredabilidad (Coan et al., 2019; de Lima et al., 2019; Parsons et al., 2020; Senhorinho et al., 2019). Aunque este carácter puede ser afectado por diferencias ambientales e interacción genotipo x ambiente, estos efectos son normalmente insignificantes o de baja magnitud (Coan et al., 2019). Coan et al. (2019)

mencionan estudios que indican que hay efectos de dominancia de baja magnitud en cruzas dialélicas.

El desarrollo de programas de selección asistida por marcadores moleculares, o programas de predicción y selección genómica tiene el potencial de acelerar los tiempos de mejoramiento, disminuir costos y mejorar las predicciones de performance. Ejemplos de su implementación para asignar grupos heteróticos a líneas pueden verse en Beckett et al. (2017) y White et al. (2020). Sin embargo, poco se ha reportado sobre el uso de marcadores en programas de especialidades de maíz. Siendo la expansión un carácter con un importante componente aditivo, se ha logrado asociarlo a múltiples Polimorfismos de Nucleótidos Simples (SNPs, según sus siglas en inglés: Single Nucleotide Polymorphisms) (Parsons et al., 2020). Por ejemplo, Senhorinho et al. (2019) encontraron asociación significativa entre 4 SNPs y expansión. Completando el trabajo anteriormente citado, un estudio más reciente reportó el hallazgo de 4 meta-Quantitative Trait Loci (mQTL, meta loci de carácter cuantitativo) asociados con el carácter de expansión.

Finalmente, los trabajos disponibles en los que se evalúa la expansión y su tipo son hechos sobre líneas, con excepción de Parsons et al., (2020), que evaluaron tipo de expansión en híbridos y encontraron que un híbrido puede tener expansión tipo mushroom, siendo sus parentales tipo butterfly. Queda por explorar si se repite este comportamiento dentro del programa en evaluación y cómo se expresan tanto el volumen de expansión como el tipo en híbridos experimentales del programa.

Otro carácter de importancia comercial es el denominado K10, o calibre. Este dato representa la cantidad de granos que hay en 10g. A menor K10, mayor tamaño de grano, y, por lo tanto, es un producto más demandado por el mercado. Se estima que hay una relación inversa entre expansión y K10, por lo que, mejorar un carácter puede ser contrario a la mejor del otro.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la variabilidad genética de la población de mejoramiento de maíz pisingallo mediante el uso de marcadores moleculares (SNP) e información fenotípica de los caracteres arriba mencionados (expansión y K10), tanto en líneas como híbridos. La información molecular (SNPs) se usará para conocer las distancias genéticas entre los diferentes genotipos y en un futuro asociar marcadores moleculares a ambos caracteres.

## MEATERIALES Y MÉTODOS

### *Descripción de las líneas de maíz pisingallo*

Se seleccionaron 70 líneas avanzadas, identificadas del 1 a 70, del programa de mejoramiento de maíz pisingallo de la empresa Speciosa SA para su genotipado. Se incluyeron en la selección tanto líneas usadas en la producción de híbridos comerciales como algunas propuestas para su avance a comercial (aunque vale destacar que no todas alcanzarán esa etapa).

De las 70 líneas a genotipar, 26 son del grupo heterótico South American (SA), 30 pertenecen al grupo heterótico No South American (no-SA) y 14 a las que no se les determinó pertenencia a ningún grupo, ya sea por pedigree o por ensayos. En cuanto al tipo de expansión, 35 son de tipo butterfly y 35 son de tipo mushroom.

### *Genotipado de las líneas de maíz pisingallo*

La extracción del ADN, el genotipado y el análisis de calidad de los SNPs se realizó por medio del Laboratorio de Genómica y Marcadores Moleculares-FAUBA.

Para la extracción se hizo germinar la semilla de las líneas seleccionadas en macetas. La misma se llevó a cabo siguiendo el protocolo de extracción ADN con Kit Kleargene. El ADN purificado se secuenció por DArT (Kilian et al., 2012), un método de secuenciación de alto caudal que revela polimorfismos bialélicos. Esta secuenciación se hizo mediante un servicio prestado por Diversity Arrays Technology Pty Ltd (DArT PL). Más información puede obtenerse en el sitio web: (Welcome - Diversity Arrays Technology, n.d.).

Los SNPs obtenidos se mapearon sobre el genoma de referencia Zm-B73-REFERENCE-GRAMENE-4.0 (Woodhouse et al., 2021). Se retuvieron los SNPs que mapean sobre el mismo.

### *Obtención y caracterización fenotípica de líneas e híbridos*

Se obtuvo semilla de las líneas genotipadas por autopolinización (selfing) en el campo de cría de la empresa. Esa semilla se almacenó en cámara fría para tanto su uso dentro del programa como para su caracterización fenotípica.

La semilla de los híbridos se obtuvo tanto mediante polinizaciones manuales en el campo de cría como en testcrosses en lotes aislados. La semilla híbrida se sembró en Ensayos Comparativos de Rendimiento (ECR) multiambientales. En la **Tabla 1** se puede ver la cantidad de ambientes (combinación de campaña y localidad) e híbridos evaluados en cada uno. La polinización de los ensayos fue libre. Al momento de la cosecha, se recolectaron a mano espigas de cada parcela, que una vez secas se trillaron y se juntó el grano en una sola muestra. Posteriormente, el grano se mantuvo en cámara a temperatura y humedad controladas para estabilizar la muestra para su posterior evaluación.

**Tabla 1.** Ambientes y cantidad de híbridos tipo butterfly evaluados por ambiente.

Campaña	Localidad	Híbridos
19/20	América	9
	Inriville	9
	Jesús María	31
	Pinzón Temprana	109
	Pinzón Tardía	36
	Río Cuarto	9
	Venado Tuerto	9
20/21	América	41
	Pinzón Temprana	43
	Venado Tuerto	41
21/22	América	34
	Jesús María	24
	Leones	24
	Pinzón Temprana	34
	Pinzón Tardía	24
	Río Cuarto	12
	Alejandro Roca	12
Venado Tuerto	34	
Total	18	535

Una vez estabilizadas las muestras, se determinó el K10 y el volumen de expansión de cada muestra. Para la determinación del K10 se contaron los granos en 3 subréplicas de 10 gramos y se promediaron. La expansión se midió en una pochoclera de marca Cretors (Cretors | Concession Equipment & Popcorn Poppers, n.d.), siguiendo el protocolo propuesto en el manual de la pochoclera. La expansión se mide en cc/g. Para el caso de las líneas, como las muestras son de menor cantidad de semilla, se usaron dos pochocleras comerciales de aire caliente marca Ultracomb. En este caso se usaron exclusivamente para evaluar tipo de expansión, siguiendo los siguientes criterios: se pesaron 20 gramos de semilla y

se expandieron alternando cada una de las pochocleras para dejar que se enfríen.

### Modelos estadísticos para el análisis de la información fenotípica

Se plantean 3 modelos mixtos para analizar la información fenotípica de Expansión y K10. Se tomar como variables independientes el híbrido y el ambiente, que se forma como la conjunción de localidad y campaña:

1. En el primer modelo ambas variables se toman como aleatorias, con lo cual se genera un modelo de efectos aleatorios (M1).
2. En el segundo modelo el híbrido se toma como una variable de efecto aleatorio y el ambiente como variable de efecto fijo (M2).
3. En el tercer modelo el híbrido se toma como variable de efecto fijo y el ambiente como variable de efecto aleatorio (M3).

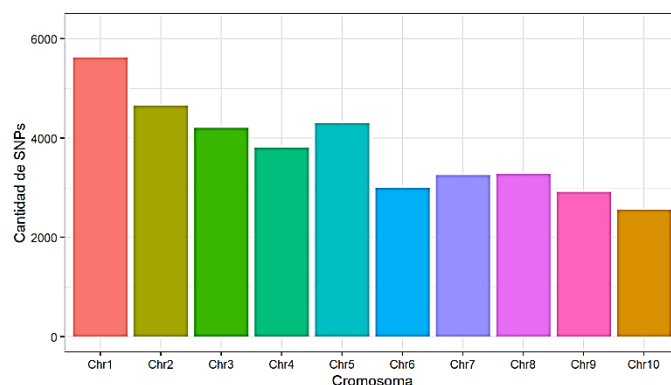
### Análisis de la Información

El análisis de la información provista por DArT PL fue realizado por el paquete de R (R Core Team, 2020) *dartR* (Gruber et al., 2018). Para los resultados fenotípicos se usaron las funciones base de R junto con el ecosistema *tidyverse* (Wickham et al., 2019). Se usó el paquete *lme4* (Bates et al., 2015) para los análisis estadísticos de la información fenotípica, y el paquete *lsmeans* (Lenth, 2016) para la obtención de los datos genotípicos. Se usó el paquete de R *BGLR* (Pérez & de los Campos, 2014) para la asociación de SNPs a valores de mejora.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Genotipado

Se informaron 43.901 SNPs de los 69 genomas secuenciados (el genotipo 42 no pudo ser genotipado por baja calidad del ADN). No todos los SNPs mapean sobre los cromosomas del genoma de referencia de maíz, por lo que un primer filtro redujo la cantidad de SNPs que sí mapean a 37.571. La distribución de los SNPs que mapean sobre el genoma de referencia se puede observar en la Figura 1. Se aprecia que hay una buena distribución de los mismos en el genoma, a pesar de notarse una disminución en la cantidad entre el cromosoma 1 y el 10.



**Figura 1.** Cantidad de SNPs identificados por genotipado por DArT que mapean en cada cromosoma del genoma de referencia de maíz.

### Calidad e información de los SNPs

#### Análisis de call rates

En algunos casos (combinaciones de SNPs y materiales) no fue posible determinar el alelo correspondiente. Esto puede deberse a un problema de calidad del ADN. Otra razón puede ser que, dado que DArT revela polimorfismos bialélicos y si algún locus contiene una variante no considerada por la prueba, no se puede hacer la asignación (no es posible hacer un call).

La proporción de call rates, tanto a nivel de SNPs o de líneas, fue alta. 17.877 SNPs (47,58%) presentan niveles de call rate menores a 0,85. La causa más probable es la diversidad en los materiales genotipados.

#### Análisis de heterocigosis

El análisis de los SNPs mostró que el nivel de heterocigosis de las líneas es menor al 5%. Se observaron 7 genotipos (10,14% del total) con valores de heterocigosis mayores a ese nivel. Éstos son el 30 (12,5%), 31 (13,9%), 35 (11,5%), 37 (5,6%), 39 (13,9%), 52 (10,7%) y 67 (9,6%).

#### Análisis de Frecuencia del Alelo Menor

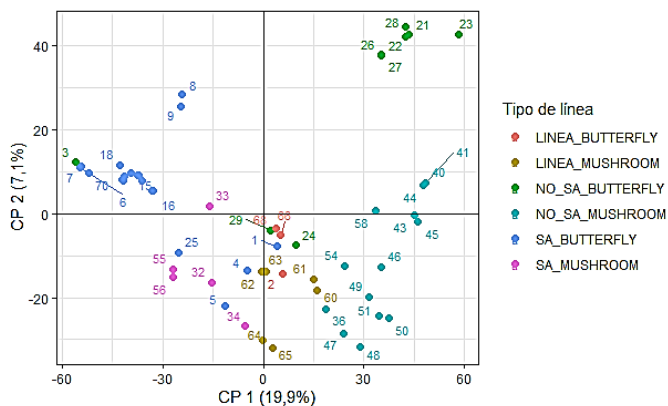
El análisis de MAF (Minor Allele Frequency) sirve para determinar la capacidad de los SNPs para separar entre germoplasmas (cuanto mayor es MAF, mejor segrega entre germoplasmas). Es un parámetro útil al seleccionar loci para estudios de diversidad, y en estudios posteriores, es una ayuda al buscar marcadores moleculares. En este panel el 74% de los SNPs (27.768) tiene un MAF menor a 0,04, lo que es consistente con el nivel de diversidad que existe en el panel.

#### Análisis de diversidad y distancias genéticas

Se seleccionaron los SNPs de mayor calidad en base a los siguientes criterios: call rate mayor a 0,85 y MAF mayor a 0,04. Como resultado de este filtro se retuvieron 9.803 SNPs. Cabe mencionar que los 27.768 SNPs restantes no se descartan del conjunto de datos general ya que

pueden ser utilizados en la búsqueda de marcadores moleculares específicos.

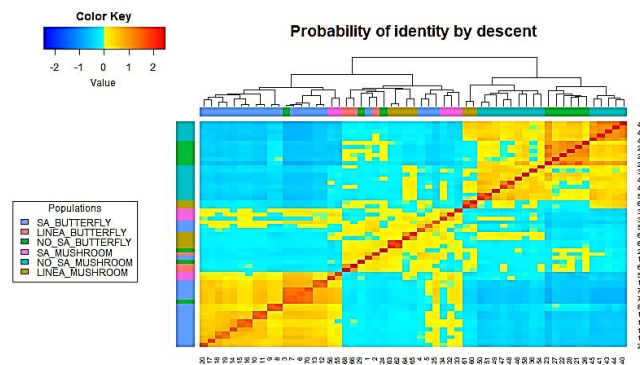
Con los SNPs seleccionados se calculó la distancia genética euclídea entre genotipos. Los resultados se visualizan (**Figura 2**) con la técnica de Análisis de Coordenadas Principales (PCoA, Principal Co-ordinates Analysis, según sus siglas en inglés) (Gower, 1966). Se descartaron los genotipos con heterocigosis mayor al 10% (genotipos 30, 31, 35, 39, 52) y no se muestran en la figura.



**Figura 2.** Análisis de PCoA basado en las distancias genéticas entre líneas de maíz pisingallo.

Se puede apreciar que los SNPs seleccionados segregan bien los genotipos de expansión tipo butterfly según su grupo heterótico, pero no así los de expansión tipo mushroom, aunque se observa una tendencia divergente. Esto es debido a que el programa tiene bien identificados y separados los grupos heteróticos en las líneas del primer tipo, mientras que tiene un desarrollo menor en las líneas mushroom.

Con la información genotípica se calculó la matriz de probabilidad de los alelos de un loci de ser idénticos por descendencia (**Figura 3**). La diagonal de la figura es igual a  $1+F$ , donde F es el coeficiente de endogamia. Se pueden observar en la figura 2 grupos principales de líneas, coincidentes con los grupos heteróticos SA (South American) y no-SA (no South American). También se observan genotipos identificados como “Líneas” que no tenían identificado ningún grupo heterótico previo. Se destaca el caso del genotipo 3, que está identificado como no-SA, pero se encuentra en el grupo de los SA. Algo similar sucede con el genotipo 31, que está identificado como SA, pero se ubican dentro de los no-SA.

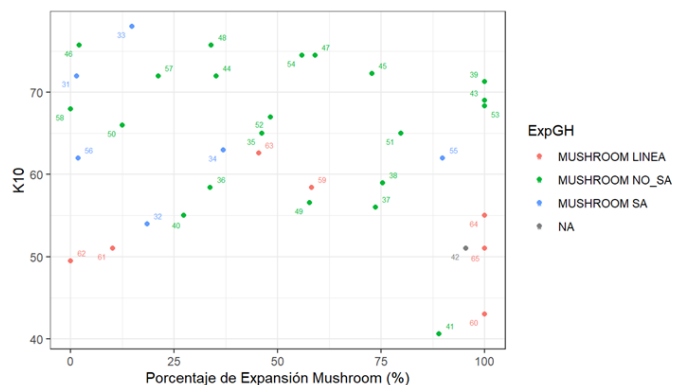


**Figura 3.** Heatmap y dendrograma de probabilidad de un alelo de ser idéntico por descendencia.

### Datos fenotípicos

#### Evaluación de líneas mushroom

Para seleccionar líneas con alta expresión del carácter mushroom y bajo K10 se graficó la relación entre ambos caracteres (**Figura 4**). Se puede observar en el gráfico que las líneas 41, 42, 60, 64 y 65 tienen muy buen K10 (menor a 55) y alta expresión del carácter mushroom. Hay otros genotipos que tienen alto porcentaje de expansión tipo mushroom, pero con un tamaño de grano menor (mayor K10). Éstos son los números 39, 43, 53 y 55.



**Figura 4.** Relación entre expansión tipo mushroom y K10 en líneas de pedigree mushroom.

Se sembraron las líneas seleccionadas en invernáculo y en la cría de invierno para realizar cruza y obtener semilla híbrida. Se obtuvo poca cantidad de semilla híbrida en invernáculo, por lo que no pudo ser incluida en los ECR de la campaña 22/23, pero sí en el campo de cría, donde se realizó la autopolinización de las plantas con el objetivo de obtener grano (F2) para evaluar expansión y K10 (Tabla 2). Si bien son datos exploratorios, se puede apreciar que la línea 64 produce híbridos con alta expresión del carácter mushroom y buen K10 (manteniendo lo expresado por la línea per se). Sin embargo, hay casos en los que no se corrobora esta correlación, como es el caso de la línea 60. Luego hay líneas que tienen un



comportamiento más errático en híbridos como son la 41 y 42.

**Tabla 2.** Resultados de expansión de líneas tipo mushroom.

Híbrido	K10	Mushroom Tipo A (%)	Mushroom Tipo B (%)	Mushroom (%)	Expansión (cc/g)
x 63	52.67	25.19	30.53	55.73	N/D
39 x 55	52.49	34.15	44.72	78.86	N/D
41 x 60	43.33	0	23.85	23.85	33.33
42 x 55	44	30.8	40.4	71.2	40
x 60	43.43	5.41	39.19	44.59	23.57
51 x 41	43.1	30.45	55.14	85.6	33.67
51 x 55	49.67	8.81	13.84	22.64	32.68
53 x 55	62.67	14.06	52.61	66.67	45
60 x 41	37	0	40.1	40.1	28.33
60 x 42	43.33	0	5.56	5.56	31.67
63 x 60	50.33	12.75	16.33	29.08	40.83
64 x	46.84	51.15	41.47	92.63	29.9
64 x 42	42.33	39.84	60.16	100	36.67
65 x 41	53.18	7	71.19	78.19	35.12
x 64	49	21.62	60	81.62	28.67

### Evaluación de híbridos tipo butterfly

Dentro de los híbridos tipo butterfly, se evaluaron híbridos en ensayos comparativos de rendimiento en 1 ambientes. De algunos ensayos se tomaron muestras para evaluar K10 y expansión. Se corrieron los tres modelos estadísticos para cada carácter y se eligió el mejor según su ajuste (Tablas 3 y 4). Para ambos caracteres el modelo de mejor ajuste es el M3 (Híbrido como factor de efecto fijo y Ambiente como factor de efecto aleatorio).

**Tabla 3.** Comparación de modelos para el carácter expansión.

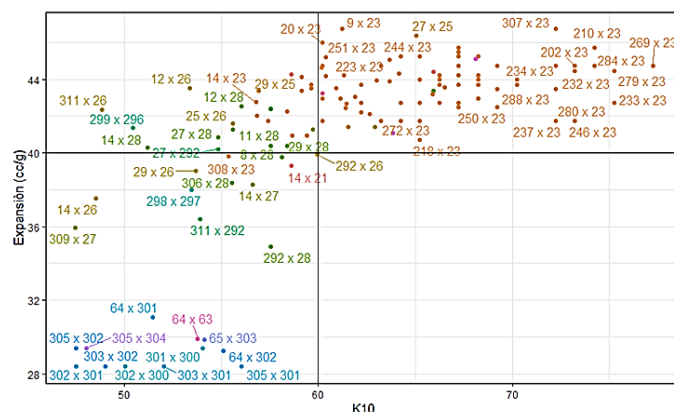
Modelo	npar	AIC	BIC	logLik	deviance	ChiSq	Df	Pr(>ChiSq)
M1	4	1613.12	1628.32	-802.56	1605.119			
M2	15	1587.18	1644.16	-778.59	1557.176	47.94243	11	<0,0001
M3	150	1350.46	1920.33	-525.23	1050.461	506.7149	135	<0,0001

**Tabla 4.** Comparación de modelos para el carácter K10.

Modelo	npar	AIC	BIC	logLik	deviance	ChiSq	Df	Pr(>ChiSq)
M1	4	2670.83	2687.33	-1331.4	2662.83			
M2	20	2621.39	2703.88	-1290.7	2581.39	81.442	16	<0,0001
M3	157	2454.95	3102.53	-1070.5	2140.95	440.437	137	<0,0001

Con la información ajustada por el modelo se estimó el valor genotípico de cada híbrido y se graficó la dispersión donde K10 se graficó en el eje de abscisas y expansión en el eje de ordenadas (Figura 5). Se observa que hay líneas que producen híbridos con muy buena expansión (mayor a 40 cc/g) aunque K10 variable, como es el caso de la línea

23; mientras que hay otras líneas que producen muy buen K10 pero baja expansión (vale aclarar que el mejor K10 es el valor más bajo, ya que representa grano más grande), como es el caso de la línea 64.



**Figura 5.** Diagrama de dispersión de expansión (A) y K10 (B) de híbridos.

## CONCLUSIONES

Mediante el genotipado por DArT se comprobó que hay alta variabilidad genética dentro del set de líneas bajo estudio. Los 9.803 SNPs seleccionados por su calidad demostraron ser suficientes para capturar dicha variabilidad y segregar genotipos de acuerdo con sus características. Se observó variabilidad fenotípica en líneas e híbridos para todos los caracteres bajo estudio: tipo de expansión, volumen de expansión y K10.

Estos resultados preliminares son promisorios para el cumplimiento del objetivo de ajustar modelos de selección genómica para expansión y K10. Falta completar la base de datos con los resultados de la presente campaña (23/24) para poder tener mejor información fenotípica y, así, un mejor ajuste del modelo.

## AGRADECIMIENTOS

A Marcelo Soria y Josefina Demicheli del Laboratorio de Marcadores Moleculares de la FAUBA por los fructíferos intercambios durante el análisis de los resultados obtenidos. A Raúl Tévez y Lucas Andriolo por haberse tomado el trabajo de fenotipar las líneas e híbridos mushroom.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B. & Walker, S. 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1). <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- 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(12).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189277>
- Coan, M. M. D., Pinto, R. J. B., Kuki, M. C., Do Amaral Júnior, A. T., Figueiredo, A. S. T., Scapim, C. A. & Warburton, M. 2019. Inheritance study for popping expansion in popcorn vs. Flint corn genotypes. *Agronomy Journal*, 111(5), 2174–2183.  
<https://doi.org/10.2134/agronj2019.04.0295>
- Cretors | Concession Equipment & Popcorn Poppers. (n.d.). Retrieved August 5, 2022, from <https://www.cretors.com/>
- De Bernardi, L. A. 2016. Perfil del Maíz Pisingallo. [http://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/ss\\_mercados\\_agropecuarios/areas/granos/\\_archivos/000061\\_Informes/\\_899991\\_Perfil del Maíz Pisingallo.pdf](http://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/ss_mercados_agropecuarios/areas/granos/_archivos/000061_Informes/_899991_Perfil%20del%20Maíz%20Pisingallo.pdf)
- de Lima, V. J., do Amaral Júnior, A. T., Kamphorst, S. H., Bispo, R. B., Leite, J. T., Santos, T. de O., Schmitt, K. F. M., Chaves, M. M., Oliveira, U. A. de, Santos, P. H. A. D., Gonçalves, G. M. B., Khan, S. & Guimarães, L. J. M. 2019. Combined Dominance and Additive Gene Effects in Trait Inheritance of Drought-Stressed and Full Irrigated Popcorn. *Agronomy*, 9(12).  
<https://doi.org/10.3390/agronomy9120782>
- Gower, J. C. 1966. Some Distance Properties of Latent Root and Vector Methods Used in Multivariate Analysis. *Biometrika*, 53(3/4), 325.  
<https://doi.org/10.2307/2333639>
- Gruber, B., Unmack, P. J., Berry, O. F. & Georges, A. 2018. dartr: An r package to facilitate analysis of SNP data generated from reduced representation genome sequencing. *Molecular Ecology Resources*, 18(3), 691–699. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12745>
- Kilian, A., Wenzl, P., Huttner, E., Carling, J., Xia, L., Blois, H., Caig, V., Heller-Uszynska, K., Jaccoud, D., Hopper, C., Aschenbrenner-Kilian, M., Evers, M., Peng, K., Cayla, C., Hok, P. & Uszynski, G. 2012. Diversity Arrays Technology: A Generic Genome Profiling Technology on Open Platforms. *Methods in Molecular Biology*, 888, 67–89. [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-870-2\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-870-2_5)
- Lenth, R. V. 2016. Least-Squares Means: The R Package *lsmeans*. *Journal of Statistical Software*, 69(1).  
<https://doi.org/10.18637/jss.v069.i01>
- Parsons, L., Ren, Y., Yobi, A., Hurst, P., Angelovici, R., Rodriguez, O. & Holding, D. R. 2020. Production and Selection of Quality Protein Popcorn Hybrids Using a Novel Ranking System and Combining Ability Estimates. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00698>
- Pérez, P. & de los Campos, G. 2014. Genome-Wide Regression and Prediction with the BGLR Statistical Package. *Genetics*, 198(2), 483–495.  
<https://doi.org/10.1534/genetics.114.164442>
- R Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.r-project.org/>
- Senhorinho, H. J. C., Coan, M. M. D., Marino, T. P., Kuki, M. C., Pinto, R. J. B., Scapim, C. A. & Holland, J. B. 2019. Genomic-Wide Association Study of Popping Expansion in Tropical Popcorn and Field Corn Germplasm. *Crop Science*, 59(5).  
<https://doi.org/10.2135/cropsci2019.02.0101>
- Welcome - Diversity Arrays Technology. (n.d.). 2022. Retrieved July 25, from <https://www.diversityarrays.com/>
- White, M. R., Mikel, M. A., de Leon, N. & Kaeppler, S. M. 2020. Diversity and heterotic patterns in North American proprietary dent maize germplasm. *Crop Science*, 60(1), 100–114.  
<https://doi.org/10.1002/csc2.20050>
- Wickham, H., Averick, M., Bryan, J., Chang, W., McGowan, L., François, R., Grolemund, G., Hayes, A., Henry, L., Hester, J., Kuhn, M., Pedersen, T., Miller, E., Bache, S., Müller, K., Ooms, J., Robinson, D., Seidel, D., Spinu, V., Yutani, H. 2019. Welcome to the Tidyverse. *Journal of Open Source Software*, 4(43), 1686.  
<https://doi.org/10.21105/joss.01686>
- Woodhouse, M. R., Cannon, E. K., Portwood, J. L., Harper, L. C., Gardiner, J. M., Schaeffer, M. L. & Andorf, C. M. 2021. A pan-genomic approach to genome databases using maize as a model system. *BMC Plant Biology*, 21(1), 385. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-03173-5>