

**Tolerancia al estrés por alta densidad en maíz (*Zea mays* L.): efecto del mejoramiento y bases genéticas determinantes de caracteres arquitecturales asociados**

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires,  
Área Ciencias Agropecuarias*

**Salvador Juan Pablo Incognito**

Ingeniero Agrónomo

Universidad Nacional de Lomas de Zamora 2007

Magister en Genética Vegetal

Universidad Nacional de Rosario 2011

Cátedra de Mejoramiento Genético

Facultad de Ciencias Agrarias

Universidad Nacional de Lomas de Zamora



**FAUBA**

Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano  
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires



## COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

**César Gabriel López**

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional de Lomas de Zamora)

Doctor of Philosophy (Oregon State University)

Co-director

**Gustavo Ángel Maddonni**

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

## JURADO DE TESIS

Director de tesis

**César Gabriel López**

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional de Lomas de Zamora)

Doctor of Philosophy (Oregon State University)

JURADO

**Juan José Guiamet**

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional de Rosario)

Doctor of Philosophy (University of Michigan)

JURADO

**Daniel Alberto Presello**

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional de Rosario)

Doctor of Philosophy (McGill University)

JURADO

**Daniel Alvarez**

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional de Córdoba)

Magister Scientiae en Mejoramiento Genético Vegetal (Universidad Nacional de Rosario)

Fecha de defensa de la tesis: 7 de Marzo de 2019

**DEDICATORIA**

*A Ana, Beni y Balti por su amor, su apoyo incondicional y por llenar mi vida de momentos hermosos.*

## AGRADECIMIENTOS

En pocas palabras quisiera agradecer a todos aquellos que directa o indirectamente hicieron que mi sueño de alcanzar el máximo grado académico se haga realidad...

A César, por confiar en mí y abrirme las puertas de la Cátedra de Mejoramiento Genético hace 10 años y permitirme desarrollar en ella mi carrera como docente e investigador. Además, por abrirme las puertas de su casa y hacer que esta relación pase lo profesional enseñándome que sólo trabajando en grupo se puede llegar lejos.

A Gustavo, por contagiarme toda su energía y su forma de trabajo. Por las extensas, interminables y muy constructivas discusiones de resultados a lo largo de la tesis que siempre terminaban con una sonrisa. Por enseñarme a estructurarme, organizarme y ver las cosas desde un ángulo muy diferente.

A mis compañeros de Lomas: Vasco, Edu, Marieles, Hernán, Echu, Veneno, Norita, Cyntia, Débora y Maia por su compañía, sus discusiones y su ayuda.

A mis compañeros de FAUBA, Santi, Juan, Román, Pato, Martín, Nico, Victor, Fiera que me hicieron sentir uno más dentro de la institución y con los que compartí algunos de los momentos más lindos de mi vida, sonrisas, mates y más...

A Daniel Miralles, por su apoyo brindado en momentos críticos.

A Kari y María, por brindarme su apoyo y compartir momento de discusión y sonrisas.

A Paulita, Nacho, Robin, Luis Mayer, Negro Wies, Fabre, Ale Seco, Romi Desance, Beche, Euge Blanco, Beto Micheloud, Gaby Tinghitella, Gonza Rivelli, Diego Rotili, Juani Rattalino, Juani Cagnola y José Andrade con lo que me cruzaba, discutía, reía y disfrutaba.

A mis amigos del barrio y de la vida.

A mis suegros, cuñas y familiares, que vivieron junto a mí cada paso de este sueño y siempre confiaron en mí.

A mi viejita, la polaca, y a mis hermanas y sobrinos/as

A mi hermano, por estar incondicionalmente siempre que lo precise.

A mi viejo, que lo debe estar disfrutando desde algún lugar hermoso y por aprender de él su picardía, complicidad y la cultura del trabajo y el esfuerzo.

A CONICET y Ministerio de Educación, por becarme y permitirme finalizar mi Doctorado.

Agradezco a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Lomas de Zamora y a la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires por brindarme sus instalaciones.

A la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Lomas de Zamora y a la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires por financiar los proyectos en los que participé como investigador.

Gracias a Ana, Beni y Balti por soportarme día a día, apoyarme incondicionalmente y regalarme su amor, los amooo...

Muchas gracias a ustedes!!!

## **DECLARACIÓN**

*Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución.*

*Ing. Agr., M.Sc. Salvador Juan Pablo Incognito*

**PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS**

Ciancio, N., Parco, M., Incognito, S.J.P., Maddonni, G.A., 2016. Kernel setting at the apical and sub-apical ear of older and newer Argentinean maize hybrids. *Field Crops Res.*, 191, 101-110.

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ABREVIATURAS.....	xvii
RESUMEN.....	xviii
ABSTRACT.....	xix
CAPÍTULO 1.....	1
1.1. Planteo del problema.....	2
1.2. Estado actual del conocimiento.....	2
1.2.1. Análisis Retrospectivo de la Tolerancia al Estrés por Alta Densidad en Maíz: Rendimiento de Grano y sus Determinantes fisiológicos.....	3
1.2.2. Arquitectura genética de caracteres de la planta relacionados a la tolerancia al estrés por alta densidad.....	5
1.2.2.1. Caracteres arquitecturales relacionados al estrés por alta densidad.....	5
1.2.2.2. QTL: concepto, usos y antecedentes.....	6
1.3. Objetivos.....	7
1.3.1. Objetivo general.....	8
1.3.2. Objetivos Específicos.....	8
1.4. Hipótesis de trabajo.....	8
CAPÍTULO 2.....	9
2.1. Introducción.....	10
2.2. Materiales y Métodos.....	11
2.2.1. Manejo del cultivo y diseño experimental.....	11
2.2.2. Mediciones.....	12
2.2.3. Relaciones funcionales y análisis de datos.....	13
2.3. Resultados.....	14
2.3.1. Descripción de las condiciones climáticas durante los experimentos.....	14
2.3.2. Tasa de crecimiento de planta y de espiga, fijación y peso de granos y rendimiento de grano por planta.....	14
2.3.3. Partición de biomasa a órganos reproductivos y eficiencia reproductiva.....	19
2.4. Discusión.....	23
2.5. Conclusiones.....	25
CAPÍTULO 3.....	27
3.1. Introducción.....	28
3.2. Materiales y métodos.....	29
3.2.1. Manejo del cultivo y diseño experimental.....	29
3.2.2. Mediciones.....	29
3.2.2.1. Arquitectura de las plantas y penetración de la radiación.....	29
3.2.2.2. Crecimiento de las plantas durante el período crítico y eficiencia en la fijación de granos en la espiga apical.....	30
3.2.3. Análisis de datos.....	30
3.3. Resultados.....	31
3.3.1. Caracterización morfológica.....	31
3.3.1.1. Arquitectura de la planta, diferencias genotípicas y respuesta a la densidad de plantas.....	31
3.3.1.2. Área foliar por estrato y su distribución espacial, efectos genotípicos y de la densidad de plantas.....	33
3.3.1.3. Relaciones entre los rasgos de arquitectura de planta y sus componentes.....	36

3.3.2. Conexiones entre los rasgos arquitecturales de planta, el crecimiento de las plantas durante el período crítico y la eficiencia reproductiva de la espiga.....	41
3.3.2.1. Correlaciones entre la arquitectura y el crecimiento de las plantas.....	41
3.3.2.2. Correlaciones entre la arquitectura de la planta y del área foliar con la eficiencia en la fijación de granos .....	44
3.4. Discusión .....	48
3.4.1. El híbrido y la densidad impactan en la arquitectura de las plantas.....	48
3.4.2. Conexión entre la arquitectura de la planta y del área foliar con el crecimiento de las plantas y la eficiencia en la fijación de granos de la espiga.....	50
3.5. Conclusiones.....	50
CAPÍTULO 4 .....	52
4.1. Introducción.....	53
4.2. Materiales y Métodos .....	54
4.2.1. Material Vegetal.....	54
4.2.2. Ensayos a campo y diseño experimental.....	54
4.2.3. Mediciones fenotípicas.....	54
4.2.4. Análisis fenotípicos .....	55
4.2.5. Construcción del mapa genético y análisis de QTLs .....	56
4.3 Resultados.....	56
4.3.1. Descripción de las condiciones ambientales durante los experimentos .....	56
4.3.2 Variabilidad fenotípica .....	57
4.3.3. Mapeo de QTLs.....	64
4.4. Discusión .....	66
4.4.1. Variabilidad fenotípica de los rasgos arquitecturales de planta en una población de RILs IBM (B73×Mo17) Syn4 ante el incremento en la densidad de plantas.....	66
4.4.2. Detección de QTLs de rasgos arquitecturales de planta y sus cambios ante variaciones en la densidad de plantas y la calidad del ambiente.....	68
4.5. Conclusiones.....	71
CAPÍTULO 5 .....	72
5.1. Introducción.....	73
5.2. Aportes originales al conocimiento científico .....	74
5.3. Implicancias para investigaciones futuras .....	77
5.3.1. Arquitectura de planta y determinación del rendimiento de grano por planta ante manejos defensivos.....	77
5.3.2. ¿Cuáles son los mecanismos fisiológicos y moleculares que explican el impacto positivo de una estructura de planta compacta sobre el crecimiento de la planta en el período crítico y la fijación de granos en altas densidades de plantas en el cultivo de maíz?.....	78
5.3.3. Validación de los QTLs detectados.....	79
5.3.4. ¿El control genético del valor de orientación de la hoja es independiente de la posición de la misma a lo largo del tallo? .....	79
5.3.5. Determinar las aptitudes combinatorias y las correlaciones entre las líneas y sus híbridos derivados .....	79
BIBLIOGRAFÍA .....	81
ANEXO.....	91

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
<b>Cuadro 2.1.</b> Parámetros de los modelos alométricos (detalles al pie del cuadro) usados para estimar la biomasa vegetativa (tallos + hojas + panoja) y la biomasa de espiga apical y sub-apical. Para cada modelo, son detallados el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) y el número ( $n$ ) de plantas muestreadas.	13
<b>Cuadro 2.2.</b> Tasa de crecimiento de planta ( $TCP_{PC}$ ), espiga apical ( $TCE_{1PC}$ ) y espiga sub-apical ( $TCE_{2PC}$ ) durante el período crítico, rendimiento de grano por planta (RGP), número de granos por planta (NGP), de espiga apical ( $NGE_1$ ) y de espiga sub-apical ( $NGE_2$ ), peso de grano (PG) y prolificidad de cuatro híbridos de maíz (H) cultivados a tres densidades de plantas (D) [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas $m^{-2}$ ] en dos experimentos a campo (Exp).	16
<b>Cuadro 2.3.</b> Parámetros (valores y límites de confianza a $p < 0.05$ ) de la función curvilínea ajustada a las relaciones entre: i) el número total de granos por planta (NGP) y la tasa de crecimiento de planta durante el período crítico ( $TCP_{PC}$ ), ii) número de granos de la espiga apical ( $NGE_1$ ) y $TCP_{PC}$ , iii) $NGE_1$ y la tasa de crecimiento de espiga apical durante el período crítico ( $TCE_{1PC}$ ) y iv) número de granos de espiga sub-apical ( $NGE_2$ ) y la tasa de crecimiento de espiga sub-apical durante el período crítico ( $TCE_{2PC}$ ) de cuatro híbridos de maíz cultivados a tres densidades de plantas en dos experimentos a campo. La función curvilínea corresponde a la Eq (2). Para cada función, se detalla el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) y el número de plantas ( $n$ ).	17
<b>Cuadro 2.4.</b> Partición de biomasa a espiga apical ( $TCE_{1PC}/TCP_{PC}$ ) y a espiga sub-apical ( $TCE_{2PC}/TCP_{PC}$ ) durante el período crítico y eficiencia reproductiva a nivel de planta ( $NGP/TCP_{PC}$ ), a nivel de espiga apical ( $NGE_1/TCE_{1PC}$ ) y a nivel de espiga sub-apical ( $NGE_2/TCE_{2PC}$ ) de cuatro híbridos de maíz (H) cultivados a tres densidades de plantas (D) [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas $m^{-2}$ ] en dos experimentos a campo (Exp).	20
<b>Cuadro 2.5.</b> Parámetros (valores y límites de confianza a $p < 0.05$ ) de la función ajustada a las relaciones entre la tasa de crecimiento de espiga apical ( $TCE_{1PC}$ ) y sub-apical ( $TCE_{2PC}$ ) y la tasa de crecimiento de planta ( $TCP_{PC}$ ) durante el período crítico de cuatro híbridos de maíz cultivados a 3 densidades de plantas en dos experimentos a campo. Para cada función se detalla el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) y el número de plantas ( $n$ ).	21
<b>Cuadro 3.1.</b> Relación entre la altura a la inserción de la espiga (AE) y la altura total de la planta (AP) ( $AE/AP$ ), AE, AP, diámetro de la base del tallo (DT), área foliar por planta ( $AF_{pl}$ ), número de hojas verdes totales ( $HV_{tot}$ ), por debajo de la espiga ( $HV_i$ ) y por encima de la espiga ( $HV_s$ ), proporción de hojas verdes perpendiculares ( $PHV_{perp}$ ), y paralelas a la hilera ( $PHV_{paral}$ ) de cuatro híbridos de maíz (H) cultivados a tres densidades de plantas (D) [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas $m^{-2}$ ] en dos experimentos a campo (Exp).	32
<b>Cuadro 3.2.</b> Área foliar promedio (AF), ancho máximo de la hoja (AH), largo máximo de la hoja (LMH), valor de orientación de la hoja (VOH), ángulo de inserción foliar (AV), largo desde la inserción de la hoja al punto de quiebre (LQH), relación LQH/LMH y relación entre la radiación fotosintéticamente	34

activa (RFA) incidente ( $RFA_i$ ) y la RFA transmitida ( $RFA_t$ ) ( $RFA_t/RFA_i$ ) del estrato superior de cuatro híbridos de maíz (H) cultivados a tres densidades de plantas (D) [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas  $m^{-2}$ ] en dos experimentos a campo (Exp).

**Cuadro 3.3.** Área foliar promedio (AF), ancho máximo de la hoja (AH), largo máximo de la hoja (LMH), valor de orientación de la hoja (VOH), ángulo de inserción foliar (AV), largo desde la inserción de la hoja al punto de quiebre (LQH), relación LQH/LMH y relación entre la radiación fotosintéticamente activa (RFA) incidente ( $RFA_i$ ) y la RFA transmitida ( $RFA_t$ ) ( $RFA_t/RFA_i$ ) del estrato medio de cuatro híbridos de maíz (H) cultivados a tres densidades de plantas (D) [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas  $m^{-2}$ ] en dos experimentos a campo (Exp). 35

**Cuadro 3.4.** Área foliar promedio (AF), ancho máximo de la hoja (AH), largo máximo de la hoja (LMH), valor de orientación de la hoja (VOH), ángulo de inserción foliar (AV), largo desde la inserción de la hoja al punto de quiebre (LQH), relación LQH/LMH y relación entre la radiación fotosintéticamente activa (RFA) incidente ( $RFA_i$ ) y la RFA transmitida ( $RFA_t$ ) ( $RFA_t/RFA_i$ ) del estrato inferior de cuatro híbridos de maíz (H) cultivados a tres densidades de plantas (D) [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas  $m^{-2}$ ] en dos experimentos a campo (Exp). 36

**Cuadro Suplementario 6.1.** Tasa de crecimiento de planta ( $TCP_{PC}$ ), espiga apical ( $TCE_{1PC}$ ) y espiga sub-apical ( $TCE_{2PC}$ ) durante el período crítico, el rendimiento de grano por planta (RGP), el número de granos por planta (NGP), de espiga apical ( $NGE_1$ ) y de espiga sub-apical ( $NGE_2$ ), peso de grano (PG) y prolificidad de cuatro híbridos de maíz (H) cultivados a tres densidades de plantas (D) [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas  $m^{-2}$ ] en dos experimentos a campo (Exp). Los niveles de significancia de cada tratamiento y las interacciones de cada rasgo son indicadas por símbolos: †  $p < 0.1$ ; \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; ns: diferencias no significativas. Las diferencias mínimas significativas son detalladas entre paréntesis. 91

**Cuadro Suplementario 6.2.** Partición de biomasa a espiga apical ( $TCE_{1PC}/TCP_{PC}$ ) y a espiga sub-apical ( $TCE_{2PC}/TCP_{PC}$ ) durante el período crítico y eficiencia reproductiva a nivel de planta ( $NGP/TCP_{PC}$ ), a nivel de espiga apical ( $NGE_1/TCE_{1PC}$ ) y a nivel de espiga sub-apical ( $NGE_2/TCE_{2PC}$ ) de cuatro híbridos de maíz (H) cultivados a tres densidades de plantas (D) [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas  $m^{-2}$ ] en dos experimentos a campo (Exp). Los niveles de significancia de cada tratamiento y las interacciones de cada rasgo son indicadas por símbolos: †  $p < 0.1$ ; \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; ns: diferencias no significativas. Las diferencias mínimas significativas son detalladas entre paréntesis. 92

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
<p><b>Figura 1.1.</b> Explicación esquemática de la altura de la planta (AP), altura de inserción de espiga (AE), diámetro del tallo (DT), orientación azimutal (AZ), ángulo de inserción foliar (AV), largo desde la lígula hasta la punta de la hoja (LMH), largo desde la lígula hasta el punto de quiebre de la hoja (LQH). El valor de orientación de la hoja (VOH) es calculado como se muestra en el Capítulo 3.</p>	6
<p><b>Figura 2.1.</b> Radiación solar (A), temperatura media del aire (B) y temperatura máxima (C) durante dos estaciones de crecimiento del cultivo (líneas continuas; Exp<sub>1</sub>, líneas discontinuas; Exp<sub>2</sub>). El tiempo desde la siembra es expresado en unidades de tiempo térmico con una temperatura base de 8 °C. Las líneas horizontales representan la extensión del período crítico de los híbridos testeados en cada experimento.</p>	15
<p><b>Figura 2.2.</b> Relación entre el número de granos por planta (NGP) y la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico (TCP<sub>PC</sub>) de cuatro híbridos de maíz cultivados en tres densidades de plantas y dos experimentos. Cada símbolo identifica una planta (símbolos blancos: datos de Exp<sub>1</sub>, símbolos grises: datos del Exp<sub>2</sub>). Las líneas representan la función curvilínea ajustada al conjunto de datos de cada híbrido. Los coeficientes de determinación son detallados en la figura.</p>	18
<p><b>Figura 2.3.</b> Relación entre el número de granos por planta (NGP) y de la espiga apical (NGE<sub>1</sub>) con la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico (TCP<sub>PC</sub>) de cuatro híbridos de maíz cultivados en tres densidades de plantas en dos experimentos (símbolos blancos: datos de Exp<sub>1</sub>, símbolos grises: datos del Exp<sub>2</sub>). Cada símbolo identifica NGP (cuadrados) y NGE<sub>1</sub> (círculos) de una planta. Las líneas representan la función curvilínea ajustada a NGE<sub>1</sub> vs TCP<sub>PC</sub> de cada híbrido. Los coeficientes de determinación son detallados en la figura.</p>	19
<p><b>Figura 2.4.</b> Relación entre la tasa de crecimiento de la espiga apical (TCE<sub>1PC</sub>) y sub-apical (TCE<sub>2PC</sub>) con la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico (TCP<sub>PC</sub>) de cuatro híbridos de maíz cultivados en tres densidades de plantas en dos experimentos (símbolos blancos: datos de Exp<sub>1</sub>, símbolos grises: datos del Exp<sub>2</sub>). Cada símbolo identifica el crecimiento de la espiga apical y (círculos) sub-apical (cuadrados) de una planta. Las líneas representan la función lineal (línea continua) o bi-lineal (líneas discontinuas) ajustadas al conjunto de datos de la espiga apical y sub-apical de cada híbrido. Se detallan los coeficientes de determinación.</p>	21
<p><b>Figura 2.5.</b> Relación entre el número de granos de la espiga apical (NGE<sub>1</sub>) y sub-apical (NGE<sub>2</sub>) con la tasa de crecimiento de cada espiga durante el período crítico (TCE<sub>1PC</sub>, TCE<sub>2PC</sub>) de cuatro híbridos de maíz cultivados en tres densidades de plantas en dos experimentos (símbolos blancos: datos de Exp<sub>1</sub>, símbolos grises: datos del Exp<sub>2</sub>). Cada símbolo identifica NGP (cuadrados) y NGE<sub>1</sub> (círculos) de una planta. Las líneas representan la función curvilínea ajustada a NGE<sub>1</sub> vs TCP<sub>PC</sub> de cada híbrido. Se detallan los coeficientes de</p>	22

determinación.

**Figura 3.1.** Relación entre el cociente de la altura a la inserción de espiga (AE) y la altura total de la planta (AP) y sus determinantes para cuatro híbridos de maíz cultivados en tres densidades de plantas (círculos: D4, cuadrados: D8 y triángulos: D12) en dos experimentos (símbolos vacíos: Exp<sub>1</sub> y símbolos llenos: Exp<sub>2</sub>, respectivamente). Cada símbolo identifica el valor correspondiente a cada repetición. La línea representa la función lineal ajustada al conjunto de datos de todos los híbridos bajo las diferentes combinaciones Exp × D × H. Se detalla el coeficiente de determinación. 37

**Figura 3.2.** Relación entre el área foliar y el ancho máximo (A, C y E) y el largo máximo de las hojas (B, D y F) para cuatro híbridos de maíz cultivados en tres densidades de plantas (círculos: D4, cuadrados: D8 y triángulos: D12) en dos experimentos (símbolos vacíos: Exp<sub>1</sub> y símbolos llenos: Exp<sub>2</sub>, respectivamente). Las Figuras A y B, C y D y E y F, representan las relaciones para el estrato superior, medio e inferior respectivamente. Cada símbolo identifica el valor correspondiente a cada repetición. Las líneas representan la función lineal ajustada al conjunto de datos de todos los híbridos bajo las diferentes combinaciones Exp × D × H. Se detalla el coeficiente de determinación. 38

**Figura 3.3.** Relación entre el valor de orientación de la hoja (VOH) y el ángulo de inserción de la hoja (A, C y E) y el VOH y la relación entre el largo de la hoja hasta el punto de quiebre y el largo máximo de la hoja (B, D y F) para cuatro híbridos de maíz cultivados en tres densidades de plantas (círculos: D4, cuadrados: D8 y triángulos: D12) en dos experimentos (símbolos vacíos: Exp<sub>1</sub> y símbolos llenos: Exp<sub>2</sub>, respectivamente). Las Figuras A y B, C y D y E y F, representan las relaciones en el estrato superior, medio e inferior, respectivamente. Cada símbolo identifica el valor correspondiente a cada repetición. Las líneas representan la función lineal ajustada al conjunto de datos de todos los híbridos bajo las diferentes combinaciones Exp × D × H. Se detalla el coeficiente de determinación. 39

**Figura 3.4.** Relación entre el cociente del largo desde la inserción de la hoja hasta el punto de quiebre (LQH) y el largo máximo de la hoja (LMH) y el LQH (LQH/LMH; A, C y E) y entre LQH/LMH y el LMH (B, D y F) para cuatro híbridos de maíz cultivados en tres densidades de plantas (círculos: D4, cuadrados: D8 y triángulos: D12) en dos experimentos (símbolos vacíos: Exp<sub>1</sub> y símbolos llenos: Exp<sub>2</sub>, respectivamente). Las Figuras A y B, C y D y E y F, representan las relaciones en el estrato superior, medio e inferior, respectivamente. Cada símbolo identifica el valor correspondiente a cada repetición. Las líneas representan la función lineal ajustada al conjunto de datos de todos los híbridos bajo las diferentes combinaciones Exp × D × H. Se detalla el coeficiente de determinación. 40

**Figura 3.5.** Correlaciones entre la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico (TCP<sub>PC</sub>) y la relación entre la altura a la inserción de la espiga (AE) y la altura de la planta (AP) (AE/AP), AE, AP, diámetro de la base del tallo (DT), área foliar acumulada por planta (AF<sub>pl</sub>), número de hojas verdes totales (HV<sub>tot</sub>), por debajo de la espiga (HV<sub>i</sub>) y por encima de la espiga (HV<sub>s</sub>), proporción de hojas verdes perpendiculares (PHV<sub>perp</sub>), y paralelas a la hilera 41

( $PHV_{\text{paral}}$ ) de cuatro híbridos de maíz cultivados a tres densidades de plantas [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas  $m^{-2}$ ] en dos experimentos a campo (Exp<sub>1</sub> y Exp<sub>2</sub>). Las líneas punteadas indican un valor de correlación de 0.5 y -0.5 entre variables. Las correlaciones  $\geq \pm 0.5$  y  $\leq 0.57$  fueron significativas a  $p < 0.1$  y las  $\geq \pm 0.58$  fueron significativas  $p < 0.05$ .

**Figura 3.6.** Correlaciones entre la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico (TCP<sub>PC</sub>) y el área foliar (AF), el ancho máximo de la hoja (AH), el largo máximo de la hoja (LMH), el valor de orientación de la hoja (VOH), el ángulo de inserción de la hoja (AV), la relación entre el largo desde la inserción de la hoja al punto de quiebre (LQH) y el LMH (LQH/LMH) y el LQH en el estrato superior (A), medio (B) e inferior (C) de cuatro híbridos de maíz cultivados a tres densidades de plantas [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas  $m^{-2}$ ] en dos experimentos a campo (Exp<sub>1</sub> y Exp<sub>2</sub>). Las líneas punteadas indican un valor de correlación de 0.5 y -0.5 entre variables. Las correlaciones  $\geq \pm 0.5$  y  $\leq 0.57$  fueron significativas a  $p < 0.1$  y las  $\geq \pm 0.58$  fueron significativas a  $p < 0.05$ .

**Figura 3.7.** Diagrama de sendero mostrando relaciones causales entre la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico (TCP<sub>PC</sub>, variable dependiente) y las principales variables que definen el tamaño y la arquitectura del área foliar (variables independientes) como el área foliar acumulada por planta (AF<sub>pl</sub>) y el área foliar promedio de las hojas en el estrato medio (AF<sub>m</sub>) e inferior (AF<sub>i</sub>), y valor de orientación de la hoja en el estrato superior (VOH<sub>s</sub>), medio (VOH<sub>m</sub>) e inferior (VOH<sub>i</sub>). Los diagramas incluyen los datos correspondientes al experimento 1 (A) y al experimento 2 (B). Dentro de cada diagrama los números en color negro, azul y rojo indican los senderos implicados en la determinación de las correlaciones de los datos de cuatro híbridos de maíz sembrados a 4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas  $m^{-2}$ , respectivamente. Las flechas dobles representan asociaciones mutuas entre variables estimadas a partir del coeficiente de correlación ( $r$ ) y las flechas simples representan influencias directas estimadas a partir de los coeficientes de sendero. Los valores de correlación ( $r$ ) entre cada variable independiente y la variable dependiente se presentan en el la Figura 3.4 y 3.5. Los niveles de significancia de las correlaciones son indicadas con \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  y ns: diferencias no significativas.

**Figura 3.8.** Correlaciones entre la eficiencia reproductiva de la espiga apical ( $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$ ) y la relación entre la altura a la inserción de la espiga (AE) y la altura de la planta (AP) (AE/AP), AE, AP, diámetro de la base del tallo, área foliar acumulada por planta (AF<sub>pl</sub>), número de hojas verdes totales (HV<sub>tot</sub>), por debajo de la espiga (HV<sub>i</sub>) y por encima de la espiga (HV<sub>s</sub>), proporción de hojas verdes perpendiculares ( $PHV_{\text{perp}}$ ), y paralelas a la hilera ( $PHV_{\text{perp}}$ ) de cuatro híbridos de maíz cultivados a tres densidades de plantas [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas  $m^{-2}$ ] en dos experimentos a campo (Exp<sub>1</sub> y Exp<sub>2</sub>). Las líneas punteadas indican un valor de correlación de 0.5 y -0.5 entre variables. Las correlaciones  $\geq \pm 0.5$  y  $\leq 0.57$  fueron significativas a  $p < 0.1$  y las  $\geq \pm 0.58$  fueron significativas  $p < 0.05$ .

**Figura 3.9.** Correlaciones entre la eficiencia reproductiva de la espiga apical ( $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$ ) y el área foliar (AF), el ancho máximo de la hoja (AH), el

largo máximo de la hoja (LMH), el valor de orientación de la hoja (VOH), el ángulo de inserción de la hoja (AV), la relación entre el largo desde la inserción de la hoja al punto de quiebre (LQH) y el LMH (LQH/LMH) y el LQH en el estrato superior (A), medio (B) e inferior (C) de cuatro híbridos de maíz cultivados a tres densidades de plantas [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas  $m^{-2}$ ] en dos experimentos a campo (Exp<sub>1</sub> y Exp<sub>2</sub>). Las líneas punteadas indican un valor de correlación de 0.5 y -0.5 entre variables. Las correlaciones  $\geq \pm 0.5$  y  $\leq 0.57$  fueron significativas a  $p < 0.1$  y las  $\geq \pm 0.58$  fueron significativas a  $p < 0.05$ .

**Figura 3.10.** Diagrama de sendero mostrando relaciones causales entre la eficiencia reproductiva de la espiga apical ( $NGE_1 TCE_{IPC}^{-1}$ , variable dependiente) con la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico ( $TCP_{PC}$ ) y las principales variables que definen el tamaño y la arquitectura del área foliar (variables independientes) como el área foliar acumulada por planta ( $AF_{pi}$ ) y el área foliar promedio de las hojas en el estrato superior ( $AF_s$ ) y valor de orientación de la hoja en el estrato superior ( $VOH_s$ ), medio ( $VOH_m$ ) e inferior ( $VOH_i$ ). Los diagramas incluyen los datos correspondientes al experimento 2. Dentro de cada diagrama los números en color negro, azul y rojo indican los senderos implicados en la determinación de las correlaciones de los datos de cuatro híbridos de maíz sembrados a 4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas  $m^{-2}$ , respectivamente. Las flechas dobles representan asociaciones mutuas entre variables estimadas a partir del coeficiente de correlación ( $r$ ) y las flechas simples representan influencias directas estimadas a partir de los coeficientes de sendero. Los valores de correlación ( $r$ ) entre cada variable independiente y la variable dependiente se presentan en el la Figura 3.4 y 3.5. Los niveles de significancia de las correlaciones son indicadas con \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  y ns: diferencias no significativas. 47

**Figura 4.1.** Radiación solar incidente (A) y temperatura media del aire (B) durante dos estaciones de crecimiento de los cultivos (líneas continuas: Exp<sub>1</sub>, líneas discontinuas: Exp<sub>2</sub>). El tiempo desde la siembra es expresado en unidades de tiempo térmico con una temperatura base de 8°C. 57

**Figura 4.2.** Porcentaje de la varianza total (áreas) explicada por la varianza del genotipo, las interacciones y la varianza residual, y valores de heredabilidad (valores superiores) para el área foliar (AF), ancho máximo de la hoja (AH), largo máximo de la hoja (LMH), orientación azimutal (AZ), valor de orientación de la hoja (VOH), relación entre el largo desde la inserción de la hoja al punto de quiebre (LQH) y LMH (LQH /LMH), LQH, ángulo vertical de inserción de la hoja (AV), relación entre la altura de la planta (AP) y la altura a la inserción de la espiga (AE) (AE/AP), AE, AP y diámetro promedio de la base del tallo (DT) de las líneas parentales (B73 y Mo17) y de 160 RILs de la población IBM Syn4, cultivadas en dos ambientes diferentes a baja y alta densidad de plantas. 58

**Figura 4.3.** Gráfico de caja del área foliar (A), ancho máximo de la hoja (B), largo máximo de la hoja (C) y orientación azimutal (D) para las líneas parentales (B73 y Mo17) y 160 RILs de la población IBM Syn4 cultivadas en dos ambientes diferentes (Amb<sub>1</sub> y Amb<sub>2</sub>) a baja (BD) y alta densidad de plantas (AD). Cada caja representa el cuartil por encima y por debajo de la 59

mediana de las RILs. El símbolo + indica el valor medio de cada carácter y los bigotes describen el mínimo y el máximo valor registrado para las RILs. Las flechas fueron usadas para señalar el valor medio de cada carácter para cada línea parental. Los números sobre cada gráfico separados por una barra indican el CV y la  $h^2$ .

**Figura 4.4.** Gráfico de caja del valor de orientación de la hoja (A), ángulo vertical de inserción de la hoja (B), relación entre el largo al quiebre de las hojas y el largo máximo de las hojas (C) y largo al quiebre de las hojas (D) para las líneas parentales (B73 y Mo17) y 160 RILs de la población IBM Syn4 cultivadas en dos ambientes diferentes ( $Amb_1$  y  $Amb_2$ ) a baja (BD) y alta densidad plantas (AD). Cada caja representa el cuartil por encima y por debajo de la mediana of RILs. El símbolo + indica el valor medio de cada carácter y los bigotes describen el mínimo y el máximo valor registrado para las RILs. Las flechas fueron usadas para señalar el valor medio de cada carácter para cada línea parental. Los números sobre cada gráfico separados por una barra indican el CV y la  $h^2$ .

**Figura 4.5.** Gráfico de caja del valor de la relación entre la altura a la inserción de la espiga y la altura de la planta (A), altura a la inserción de la espiga (B), altura de la planta (C) y diámetro del tallo (D) para las líneas parentales (B73 y Mo17) y 160 RILs de la población IBM Syn4 cultivadas en dos ambientes diferentes ( $Amb_1$  y  $Amb_2$ ) a baja (BD) y alta densidad de plantas (AD). Cada caja representa el cuartil por encima y por debajo de la mediana of RILs. El símbolo + indica el valor medio de cada carácter y los bigotes describen el mínimo y el máximo valor registrado para las RILs. Las flechas fueron usadas para señalar el valor medio de cada carácter para cada línea parental. Los números sobre cada gráfico separados por una barra indican el CV y la  $h^2$ .

**Figura 4.6.** Relaciones entre el mejor predictor lineal insesgado (BLUP) entre: área foliar y ancho máximo de la hoja (A), área foliar y largo máximo de la hoja (B), valor de orientación de la hoja y ángulo vertical de inserción de la hoja (C), valor de orientación de la hoja y relación largo al quiebre sobre largo total de la hoja (D), valor de orientación de la hoja y largo al quiebre de la hoja (E), relación largo al quiebre sobre largo total de la hoja y largo al quiebre de la hoja (F), relación altura de inserción de la espiga sobre altura total de planta y altura a la inserción de la espiga (G) y relación altura de inserción de la espiga sobre altura total de planta y altura total de la planta (H) para 160 RILs de la población IBM Syn4 cultivadas en dos ambientes diferentes (círculos:  $Amb_1$  y cuadrados:  $Amb_2$ ) a baja (símbolos vacíos) y alta densidad de plantas (símbolos llenos). La línea representa la función lineal fijada para el conjunto de datos de las RILs.

**Figura 4.7.** Mapeo de QTLs detectados para Área foliar (AF), ancho máximo de la hoja (AH), largo máximo de la hoja (LMH), largo al quiebre de la hoja (LQH), ángulo vertical de inserción de la hoja (AV), LQH/LMH, valor promedio de orientación de la hoja (VOH), altura de la planta (AP), altura a la inserción de la espiga (AE), AE/AP y diámetro promedio de la base del tallo (DT) para 160 RILs de la población IBM Syn4 cultivadas en dos ambientes diferentes ( $Amb_1$  y  $Amb_2$ ) a baja (BD) y alta densidad de plantas (AD). Los

QTLs están presentados en barras con un conector que indica la posición en el cromosoma (Cr) que fueron detectados. Dentro de los bloques de cada barra se transcribe el efecto aditivo del alelo en cada combinación  $D \times Amb$  (Bloques blancos:  $Amb_1$ , Bloques grises:  $Amb_2$  y dentro de cada color, el bloque de la izquierda: BD y el de la derecha: AD). Los efectos aditivos corresponden a la presencia del alelo B73.

**Figura 5.1.** Diagrama conceptual describiendo las principales conexiones 75 entre los determinantes fisiológicos y numéricos del rendimiento en grano así como los rasgos de la arquitectura de las plantas implicados en la tolerancia del maíz a la alta densidad de plantas. La figura muestra las diferentes escalas de estudio abordadas en esta tesis donde las cajas de contorno azul indican los rasgos que abordó el Capítulo 2, verde el 3 y rojo el 4. Las flechas continuas representan relaciones entre variables y las discontinuas indican variables o procesos que regulan dichas relaciones. Las líneas punteadas indican rasgos relacionados en diferentes escalas. Las cajas llenas (naranja) representan los rasgos que explicaron mayormente el efecto del genotipo y/o la densidad de plantas.

## ABREVIATURAS

AD	Alta densidad de plantas
AE	Altura a la inserción de la espiga
AF	Área foliar
AF <sub>pl</sub>	Área foliar por planta
AH	Ancho máximo de la hoja
Amb <sub>n</sub>	Ambiente <i>n</i>
AP	Altura de planta
AV	Ángulo de inserción foliar
BD	Baja densidad de plantas
D	Densidad de plantas
DT	Diámetro del tallo
EIR	Eficiencia en la intercepción de la radiación
EUR	Eficiencia en el uso de la radiación
Exp <sub>n</sub>	Experimento <i>n</i>
H	Híbrido
IAF	Índice de área foliar
LMH	Largo máximo de la hoja
LQH	Largo al quiebre de la hoja
NG	Número de granos
NGP	Número de granos por planta
PC	Período crítico
PG	Peso de los granos
R	Rojo
R <sub>1</sub>	Floración femenina
RFA	Radiación fotosintéticamente activa
RFA <sub>i</sub>	Radiación fotosintéticamente activa incidente
RFA <sub>t</sub>	Radiación fotosintéticamente activa transmitida
RG	Rendimiento de grano por unidad de superficie
RGP	Rendimiento de grano por planta
RL	Rojo lejano
TCC	Tasa de crecimiento del cultivo
TCE <sub>1PC</sub>	Tasa de crecimiento de la espiga apical durante el período crítico
TCE <sub>2PC</sub>	Tasa de crecimiento de la espiga sub-apical durante el período crítico
TCP <sub>PC</sub>	Tasa de crecimiento de las plantas durante el período crítico
V <sub>n</sub>	Estadio de <i>n</i> hojas liguladas
VOH	Valor de orientación de la hoja
QTL	Siglas del inglés <i>Quantitative trait loci</i> , loci de caracteres cuantitativos

## **Tolerancia al estrés por alta densidad en maíz (*Zea mays* L.): efecto del mejoramiento y bases genéticas determinantes de caracteres arquitecturales asociados**

### **RESUMEN**

La densidad de plantas que maximiza el rendimiento de grano por unidad de superficie (RG) en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) se ha incrementado a través de los años, sugiriendo que los híbridos modernos toleran mejor la competencia intra-específica que los antiguos. Resulta crucial poder conocer la conexión entre los rasgos determinantes del RG por planta (RGP) y aquellos de la arquitectura de las plantas que confieren tolerancia a la alta densidad de plantas (AD) así como sus bases genéticas, con el fin de desarrollar genotipos tolerantes a la misma. En esta tesis se analizó: i) el impacto de la densidad de plantas (baja, media y alta en híbridos) y el ambiente (dos experimentos a campo) sobre el RGP, sus componentes numéricos y fisiológicos, conjuntamente con la arquitectura de las plantas para vincular los rasgos reproductivos y los arquitecturales en híbridos argentinos liberados en diferentes épocas del mejoramiento, y ii) las bases genéticas (a través del mapeo de loci de caracteres cuantitativos o QTLs, de sus siglas en inglés) de los rasgos arquitecturales de la población pública de RILs IBM (B73×Mo17) Syn4 en baja y alta densidad en dos campañas. El incremento en la densidad de plantas impactó negativamente sobre la tasa de crecimiento de las plantas en el período crítico (*i.e.*, alrededor de floración;  $TCP_{PC}$ ) de los híbridos evaluados. En el híbrido más moderno (DK72-10), el RGP fue explicado por un elevado número de granos por planta principalmente atribuible a aquellos presentes en la espiga apical ( $NGE_1$ ) a través una mayor eficiencia de la  $E_1$  para fijar granos en función de su crecimiento ( $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$ ). Este híbrido presentó una estructura de planta más compacta asociada con un elevado valor de orientación de las hojas (VOH), producto de una mayor relación entre el largo al quiebre (LQH) y el largo máximo de la hoja (LMH) (LQH/LMH). Bajo condiciones ambientales favorables que generaron altos índices de área foliar; IAF (*ca.* de 5.6 en promedio), el VOH de los diferentes estratos foliares de las plantas en AD, se asoció directa o indirectamente con  $TCP_{PC}$  y  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$ . En la población de RILs numerosos QTL (49) se identificaron para los rasgos de la arquitectura de la planta y de aquellas hojas que rodean a la espiga apical. Los QTLs asociados con la AE/AP, co-localizaron con los de AE y AP, y se concentraron en el cromosoma 9 mientras que los QTLs asociados con VOH co-localizaron mayormente con los de AV principalmente en los cromosomas 4 y 5. Los QTLs de AE/AP y sus componentes resultaron ser los más estables a través de las diferentes condiciones evaluadas (*i.e.*, densidad de plantas × ambiente), mientras que para VOH y consecuentemente AV (en los casos en los que se observó co-localización) se detectaron QTLs adicionales AD-específicos. La identificación de rasgos arquitecturales simples de fenotipificar como el LQH (componente del VOH), que está fuertemente relacionados con  $TCP_{PC}$  y  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$  así como las regiones genómicas, halladas en el cromosoma 4 y 5 (para VOH y AV) y en el 9 para AE/AP y sus componentes, constituyen información potencialmente utilizable en los programas de mejoramiento para generar genotipos adaptados a altas densidades de plantas.

**Palabras clave:** competencia intra-específica, análisis retrospectivo, rendimiento de grano por planta, eficiencia reproductiva, valor de orientación, intercepción de radiación, loci de caracteres cuantitativos.

## **Tolerance to high plant density stress in maize (*Zea mays* L.): effect of plant breeding and genetic bases determining associated architectural traits**

### **ABSTRACT**

Plant density that maximizes grain yield (GY) in corn (*Zea mays* L.), has increased over the years, suggesting that modern hybrids are more tolerant to intra-specific competition than older ones. To develop genotypes tolerant to intra-specific competition, it is important to know the connection between the traits that determine the GY per plant (GYP) and those of plant architecture that confer tolerance to high plant density (HD) as well as their genetic bases. This thesis analyzed: i) the impact of plant density (low, optimum and high plant density) and the environment (two field experiments) on the GYP of old and modern commercial hybrids released in Argentina at different breeding eras, by studying numerical and physiological components of GYP, plant architecture and the connection between the reproductive and architectural traits, and ii) the genetic bases through quantitative trait loci [QTL] mapping of architectural traits of the public RILs population IBM (B73 × Mo17) Syn4 evaluated under low and high densities during two growing season. The increase in plant density affected negatively plant growth rate during the critical period (*i.e.*, around silking,  $PGR_{CP}$ ) of the evaluated hybrids. In the most modern hybrid (DK72-10), the GYP was explained by a high number of grains per plant mainly attributable to the apical ear ( $E_1KN$ ) through a greater efficiency of the  $E_1$  to set kernels according to their growth ( $E_1KN E_1GR^{-1}$ ). This hybrid showed a more compact plant structure associated with a high orientation value of the leaves (LOV), as a product of a greater relationship between the length at break point ( $LL_f$ ) and the maximum leaf length (LL) ( $LL_f/LL$ ). Under favorable environmental conditions that generated high leaf area index; LAI (*ca.* 5.6 on average), LOV of the different foliar strata in HD, was directly or indirectly associated with  $PGR_{CP}$  and  $E_1KN E_1GR^{-1}$ . In the RILs population, numerous QTLs (49) were identified for the architectural traits of plants and leaves (around the ear). The QTLs associated with the EH/PH, co-localized with those for EH and PH, and were concentrated on chromosome 9, while the QTLs associated with LOV co-localized mainly with those of VA which were mapped on chromosomes 4 and 5. The QTLs for EH/PH and its components were found to be the most stable through the different evaluated conditions (*i.e.*, plant density × environment), while for LOV and consequently AV (in cases where co-localization was observed) additional AD-specific QTLs were detected. The identification of simple phenotypic architectural traits such as  $LL_f$  (main component of LOV) that is strongly related to  $PGR_{CP}$  and  $E_1KN E_1GR^{-1}$  as well as the genomic regions found in chromosome 4 and 5 (for LOV and VA) and in chromosome 9 for EH/ PH and its components, are potentially useful information in breeding programs to generate genotypes adapted to high densities.

**Keywords:** intra-specific competition, retrospective analysis, grain yield per plant, reproductive efficiency, orientation value, radiation interception, quantitative trait loci.

**Introducción General**

### 1.1. Planteo del problema

La demanda global de los cultivos de cereales se está incrementando a un paso acelerado siguiendo la rápida expansión de la población mundial (Duvick y Cassman, 1999; Tilman *et al.*, 2011; United State Census Bureau, 2012; USDA-NASS, 2017). La mayor utilización de los cereales para la alimentación del ganado en conjunto con un esperado aumento en la producción de biocombustibles (Edgerton, 2009), compiten por las tierras agrícolas disponibles (Dunn *et al.*, 2013). Para satisfacer las demandas actuales y futuras de cereales, la productividad por unidad de superficie (*i.e.*, el rendimiento de grano [RG]) debe incrementarse, para evitar el avance de la agricultura sobre tierras más frágiles (Tilman *et al.*, 2011; Andrade, 2016; FAO, 2017).

Entre los cereales, el maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cultivos más importantes a nivel global (Russell, 1991), cuya producción ocupa el segundo lugar dentro de los *commodities* de origen agrícola (FAO, 2018). En 2016, según FAO se produjeron *ca.* 1060 millones de toneladas de grano, contribuyendo la Argentina con casi 40 millones de toneladas. Dado que entre el 70 a 75% de la producción nacional de maíz se destina a la exportación, la Argentina ha ocupado tradicionalmente el segundo o el tercer puesto como país exportador de este grano luego de EE.UU. y China. Durante la campaña 2016/2017, Argentina exportó *ca.* 27 millones de tn representando un ingreso de *ca.* U\$S 4125 millones (<http://www.minagri.gov.ar/>).

La producción nacional de maíz se ha incrementado desde *ca.* 7 millones de tn en el año 1966 a *ca.* 32 millones de tn en el año 2016, principalmente debido a un aumento en los RG medios que pasaron de 2150 a 7443 kg ha<sup>-1</sup> (246%) para el mencionado período, mientras que la superficie cosechada sólo aumentó *ca.* 2 millones de ha (63%). Este incremento en el RG, a una tasa de *ca.* 106 kg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, fue producto del efecto del mejoramiento genético y de un mejor conocimiento sobre la elección de las prácticas de manejo, tal como fue documentado por varios autores para la producción de maíz en Argentina y en otros países (Eyhérabide *et al.*, 1992; Eyhérabide y Damilano, 2001; Sangoi *et al.*, 2002; Duvick, 2005a, b; Luque *et al.*, 2006; Ci *et al.*, 2011; Ci *et al.*, 2012; Di Matteo *et al.*, 2016). Se estima que el mejoramiento genético aportó en promedio entre un 50 a 60% al aumento del RG en los EE.UU., coincidiendo con los valores estimados para Argentina (Duvick, 2005b; Eyhérabide, 2006). Según Duvick (2005a), los mayores RG de los híbridos modernos se deben al mejoramiento continuo en la capacidad de tolerar el estrés por alta densidad de plantas (AD), que a su vez está asociado a una mayor tolerancia a estreses abióticos y bióticos.

### 1.2. Estado actual del conocimiento

El incremento en la D, a lo largo de las décadas ha producido un impacto significativo sobre el RG en los cinturones maiceros del mundo (Sangoi *et al.*, 2002; Duvick, 2005a; Lashkari *et al.*, 2011). Un ejemplo representativo, lo constituye el cambio que se ha producido en el cinturón maicero de los EE.UU., donde en Iowa la D se incrementó a razón de *ca.* 825 pl ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> (USDA-NASS, 2017). Allí, la D que maximiza los RG se encuentra en un rango que va desde las 62000 a 104000 pl ha<sup>-1</sup> dependiendo de la región (Nafziger, 2008; Iowa State University Extension, 2009; Coulter *et al.*, 2010; Thomison, 2011; Van Roekel y Coulter, 2011, 2012; Licht *et al.*, 2017). En simultáneo con la D, el RG por unidad de superficie se incrementó con una correlación de 0.65 entre ambas variables (USDA-NASS, 2017).

Por otro lado, analizando el componente genotípico, tanto el incremento del RG como la estabilidad del mismo, han sido objetivos de selección de gran importancia para los mejoradores (Duvick y Cassman, 1999; Fasoula y Fasoula, 2002; Moose y Mumm, 2008; Di Matteo *et al.*, 2016). Ipsilandis y Vafias (2005), sugirieron que el incremento

en RG y su estabilidad, podrían ser el resultado del mejoramiento del RGP y la tolerancia a estreses, en combinación con la capacidad de la respuesta a insumos, debido a una mayor eficiencia en el uso de los recursos. Numerosos trabajos demostraron además, que el efecto positivo del mejoramiento genético sobre el aumento de la tolerancia a estreses bióticos y abióticos, se tradujo a nivel agronómico en un crecimiento sostenido de la densidad de plantas que optimiza la producción de grano (Tollenaar, 1989; Eyhéabide *et al.*, 1992; Tollenaar y Wu, 1999; Eyhéabide y Damilano, 2001; Tollenaar y Lee, 2002; Echarte *et al.*, 2004; Luque *et al.*, 2006; Di Matteo *et al.*, 2016). La estabilidad del RG y la tolerancia al estrés por AD se asociaron positivamente, lo que sustenta al uso de las AD en un programa de mejoramiento como método para lograr ganancias en la estabilidad del RG. La mejora en la tolerancia del cultivo de maíz al estrés por luz originado por las AD, se ha basado en una menor reducción en el crecimiento de las plantas alrededor de la floración femenina y en una menor caída en la fijación de granos ante reducciones en el crecimiento de las plantas. La necesidad de i) profundizar los conocimientos del efecto del mejoramiento sobre la tolerancia al estrés por AD y de ii) detectar rasgos relacionados a la tolerancia que puedan ser incorporados como criterio de selección en programas de mejoramiento con la ayuda de la selección asistida por marcadores moleculares, hace imprescindible abordar nuevos estudios a dos escalas contrastantes. A nivel fenotípico, se analiza retrospectivamente los determinantes fisiológicos del RG y los rasgos arquitecturales asociados con el crecimiento de las plantas y su respuesta al incremento en la densidad de plantas en híbridos de diferentes décadas. A nivel genético, establecer si el uso de marcadores moleculares (genotipado) combinado con información fenotípica permite detectar regiones genómicas (loci de caracteres cuantitativos o QTLs de sus siglas en inglés) asociadas a rasgos que responden a la competencia entre plantas, como son aquellos relacionados con la arquitectura de la planta (v.g., altura de planta, ángulo foliar, etc.).

### **1.2.1. Análisis Retrospectivo de la Tolerancia al Estrés por Alta Densidad en Maíz: Rendimiento de Grano y sus Determinantes fisiológicos.**

La mejora en las prácticas culturales y el mejoramiento genético interactúan y determinan las ganancias en RG. Los resultados obtenidos por Duvick (1997) ilustran esta afirmación. El RG de los híbridos liberados en los 90s no difirió de aquellos liberados en los 30s a 10000 pl ha<sup>-1</sup>, pero resultaron mayores cuando la D se incrementó a 79000 pl ha<sup>-1</sup>. Estos resultados indican que el RG potencial (*i.e.*, en baja densidad de plantas) no difirió entre híbridos antiguos y modernos, pero sí en AD, destacando el impacto de la interacción manejo agronómico × mejoramiento genético sobre el RG.

Los estudios como el llevado a cabo por Duvick (1997), denominados “estudios de eras” o “análisis retrospectivos”, donde se compara el RG de híbridos antiguos y modernos, constituyen un método para comprender cómo el proceso de selección genética ha impactado sobre el RG de un cultivo (Castleberry *et al.*, 1984; Campos *et al.*, 2004; Duvick, 2005a, b; Campos *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2011b; Haegele *et al.*, 2013; Di Matteo *et al.*, 2016). Sin embargo, los estudios del impacto de la selección sobre los rasgos fisiológicos determinantes del RG son escasos. Tollenaar y Lee (2002) afirman que el mejoramiento del RG en maíz no está asociado ni al RG potencial ni a la heterosis (*i.e.*, búsqueda de mejores combinaciones de parentales), sino que existe una asociación positiva del RG con la mayor tolerancia al estrés. Así, los mayores RG de los híbridos modernos de maíz estarían generados por su mayor tolerancia a la AD, que en conjunto con la tolerancia a otros estreses y una mayor eficiencia en el uso de los

recursos, constituyen los factores determinantes que contribuyen a mejorar la productividad (Tokatlidis y Koutroubas, 2004).

En Argentina, los análisis retrospectivos han determinado, para zonas templado frías, que los híbridos modernos de maíz presentaron un mayor índice de cosecha (*i.e.*, mayor partición de biomasa hacia los destinos productivos) y una mayor estabilidad del mismo, sin modificarse la producción total de biomasa (Echarte y Andrade, 2003). En una especie como el maíz, donde se presenta una fuerte dominancia apical, la mayor estabilidad del índice de cosecha de las plantas de los híbridos modernos, estaría asociada al menor umbral de biomasa para fijar granos (*i.e.*, similar partición de biomasa a los granos ante reducciones en el crecimiento) y a una elevada plasticidad reproductiva (*i.e.*, cambios semejantes en la biomasa reproductiva ante incrementos de la biomasa total) bajo condiciones de elevada disponibilidad de recursos. Asimismo, el bajo umbral anteriormente mencionado contribuiría a explicar la mayor tolerancia de los híbridos modernos al estrés por AD. Adicionalmente, Echarte *et al.* (2004) proponen que el mayor RG de los híbridos modernos se debería a un mayor número de granos por planta (NGP) fijados por unidad de tasa de crecimiento de las plantas durante el período crítico para la fijación de granos (*i.e.*, 30 días centrados en la floración femenina,  $TCP_{PC}$ ), o sea, una mayor eficiencia reproductiva a nivel de planta ( $NGP \cdot TCP_{PC}^{-1}$ ). Para bajas (AD) e intermedias (densidad de plantas óptima;  $D_{op}$ )  $TCP_{PC}$ , la mayor  $NGP \cdot TCP_{PC}^{-1}$  de los híbridos modernos, fue atribuida a una mayor partición de materia seca a la espiga apical, *i.e.*, una mayor tasa de crecimiento de la espiga ( $TCE_{PC}^{-1}$ ) por unidad de tasa de crecimiento de la planta ( $TCP_{PC}^{-1}$ ), mientras que el NG por unidad de crecimiento de la espiga en el período crítico ( $NGP \cdot TCE_{PC}^{-1}$ ) no difirió entre híbridos antiguos y modernos. Para zonas templadas, Luque *et al.* (2006) determinaron que la ganancia genética en RG estuvo asociada a un mayor NGP, a una mejora en la producción de biomasa pos-floración y a una mayor  $TCE_{IPC} \cdot TCP_{PC}^{-1}$ . De este modo, el NGP aumentó debido a la mayor partición, mientras que el peso de los granos (PG) se mantuvo estable a causa de una mejora en la producción de biomasa post-floración por unidad de grano; *i.e.*, una mayor relación fuente/destino post-floración, evitando una compensación del mayor NG por un menor PG.

La  $TCP_{PC}$  en ausencia de limitaciones hídrico-nutricionales, guarda estrecha relación con la cantidad de radiación que llega a cada una de las plantas. En un cultivo de maíz, la arquitectura de las plantas puede variar entre híbridos, y afectar la repartición de radiación entre las plantas y la cantidad de radiación que llega a cada uno de los distintos estratos foliares (Maddonni y Otegui, 1996). Por ejemplo, las plantas de distintos híbridos de maíz pueden diferir en la altura de la planta (AP), el número de hojas totales (NHT), el área foliar de las hojas (AF), el ángulo vertical de inserción de las hojas en el tallo (AV) y el ángulo horizontal de las hojas, comúnmente conocido como orientación azimutal (AZ) (Maddonni y Otegui, 1996; Maddonni *et al.*, 2001a; Maddonni *et al.*, 2001b). Estas variaciones genotípicas pueden además presentar una diferente respuesta y plasticidad ante el incremento de la densidad (*i.e.*, respuestas foto-morfogénicas), modificando la captura de luz del canopeo y la interferencia entre las plantas (*i.e.*, sombreo entre las mismas). De este modo, para una misma D, se esperarían relaciones directas o indirectas de estos rasgos con la  $TCP_{PC}$  y la fijación de granos. Retrospectivamente, sólo el trabajo de Luque *et al.* (2006) estableció que el mejoramiento aumentó la persistencia del AF verde a madurez fisiológica, pero no determinaron caracteres relacionados a la arquitectura de la planta. De este modo, es necesario el abordaje de estudios que permitan aumentar el conocimiento del efecto del mejoramiento sobre los rasgos arquitecturales determinantes del RGP así como su respuesta a la AD en híbridos argentinos liberados en diferentes décadas. Estos estudios

permitirían detectar la existencia de variabilidad genotípica para estos rasgos y determinar cuáles son aquellos que presentan mayor interés para ser tenidos en cuenta en un programa de mejoramiento.

### **1.2.2. Arquitectura genética de caracteres de la planta relacionados a la tolerancia al estrés por alta densidad.**

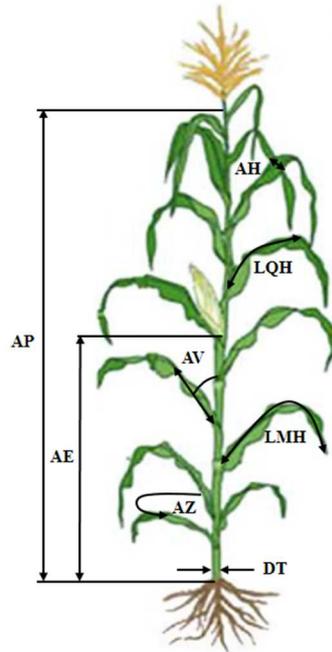
Existen dos formas de investigar un determinado problema generando interacción con otras escalas de detalle: el “bottom-up” y el “top-down”. En el primer caso, se parte de una escala de mayor detalle (*gen*) hacia otra de menor detalle (*cultivo*). En el segundo caso, se realiza el mecanismo inverso, partiendo de una escala de menor detalle (*cultivo*) hacia otra de mayor detalle (*gen*). Este último caso, encierra por ejemplo a aquellos trabajos en donde se parte de un rasgo de importancia agronómica para un cultivo y se realiza la detección de QTLs asociados a ese rasgo. En esta tesis se utilizará este enfoque con el objetivo de obtener, a partir de datos fenotípicos y genotípicos, las bases genéticas determinantes de rasgos de interés.

#### **1.2.2.1. Caracteres arquitecturales relacionados al estrés por alta densidad.**

Los análisis retrospectivos mencionados en la sección 1.2.1 han establecido que los genotipos más modernos suelen presentar mayor tolerancia al estrés por AD debido a una menor reducción de la  $TCP_{PC}$ . Los mecanismos involucrados en esta respuesta, estarían basados en una diferente plasticidad de la arquitectura de las plantas, que otorga a las mismas una mejor captura de luz por una menor interferencia entre las plantas del canopeo (*i.e.*, menor sombreado).

La arquitectura de la planta (Fig. 1.1) se encuentra determinada por varios rasgos, dentro de los cuales el AV juega un rol clave en la entrada de luz en una cubierta vegetal (Lee y Tollenaar, 2007; Hammer *et al.*, 2009). En canopeos con alto índice de área foliar (*i.e.*, área de las hojas por unidad de superficie de suelo; IAF), las hojas más erectófilas permiten una distribución más uniforme de la luz en los distintos estratos foliares (Tollenaar y Wu, 1999; Lee y Tollenaar, 2007). Es por ello, que genotipos con hojas más erectófilas han sido relacionados a mayores RG, especialmente en AD (Lambert y Johnson, 1978) lo que podría asociarse a un incremento en la actividad fotosintética por la penetración de luz hacia los estratos más profundos del canopeo (Hammer *et al.*, 2009; Brekke *et al.*, 2011).

La descripción del hábito foliar (*i.e.*, planófilo *vs* erectófilo) de un genotipo, debe considerar además si las hojas se conservan en un mismo plano a lo largo de toda su lámina. Las láminas foliares de algunos genotipos presentan una cierta curvatura ya que el AV de las mismas en la inserción con el tallo (cuello) se mantiene hasta una cierta longitud (largo al quiebre de la hoja; LQH) para luego curvarse hacia abajo. Por lo tanto, si bien el AV es una de las principales características de la arquitectura de las plantas que influye sobre la penetración de la luz en un canopeo, otra característica a evaluar es el valor de orientación de las mismas (VOH). El VOH (Pepper *et al.*, 1977) se encuentra definido por la combinación entre el AV y la relación entre el LQH y el largo máximo de la hoja (LMH). Cuando se utilizan AD, los genotipos de maíz que presentan hojas más planófilas y un bajo VOH incrementarían el sombreado y disminuirían la actividad fotosintética, mientras que genotipos con hojas más erectófilas y un elevado VOH presentarían una arquitectura de planta más eficiente en la captura de luz para la fotosíntesis en AD, mejorando el llenado de los granos e incrementando el RG (Ku *et al.*, 2010).



**Figura 1.1.** Explicación esquemática de la altura de la planta (AP), altura de inserción de espiga (AE), diámetro del tallo (DT), orientación azimutal (AZ), ángulo de inserción foliar (AV), ancho máximo de la hoja (AH), largo desde la lígula hasta la punta de la hoja ó largo máximo de la hoja (LMH), largo desde la lígula hasta el punto de quiebre de la hoja (LQH). El valor de orientación de la hoja (VOH) es calculado como se muestra en el Capítulo 3.

La AP y aquella donde se inserta la espiga (AE), son otros caracteres que determinan la arquitectura de las plantas y del canopeo pudiendo influir sobre la interferencia entre las plantas. Bajo condiciones de AD, las plantas responden para evitar el sombreado, provocando así una mayor partición de asimilados para el crecimiento de estructuras vegetativas que reproductivas (Kebrom y Brutnell, 2007). De este modo, la AP se incrementa mientras que el diámetro del tallo (DT) decrece (Sangoi *et al.*, 2002; Lashkari *et al.*, 2011). Estos cambios pueden provocar desuniformidades en la AP que repercuten en las tasas de crecimiento de las plantas por sombreado de las más altas sobre las más bajas y que pueden conducir a la aparición de plantas estériles (Ipsilandis y Vafias, 2005). Adicionalmente, las mayores alturas y el afinamiento de los tallos pueden asociarse a incrementos en el vuelco de las plantas reduciendo el RG cosechado (Sangoi *et al.*, 2002). Todas estas respuestas arquitecturales, de documentada base foto-morfogénica, pueden impactar en la interferencia entre las plantas y su crecimiento y la fijación de granos de las mismas, especialmente en AD. Si bien existen evidencias de diferencias genotípicas en estos rasgos entre híbridos comerciales y de su interacción con la D (Maddonni *et al.*, 2001b; Maddonni *et al.*, 2002), no se han realizados estudios sobre sus bases genéticas. Sólo los estudios de Ribaut *et al.* (2007) determinaron que la AP, que refleja el vigor de la planta y probablemente el desarrollo del sistema radicular, tuvo una correlación significativa y estable con el RG en diferentes ambientes edáficos.

#### 1.2.2.2. QTL: concepto, usos y antecedentes.

La selección para obtener genotipos con arquitectura de plantas deseables puede llevarse a cabo mediante métodos convencionales de mejoramiento genético que pueden ser complementados por selección asistida por marcadores moleculares (MAS, de sus siglas en inglés). Para ello, es necesario estimar parámetros genéticos como la heredabilidad de los caracteres de interés, las correlaciones genéticas entre ellos y establecer asociaciones significativas entre marcadores y dichos caracteres.

MAS es una combinación de genética tradicional y biología molecular que colabora con la selección de genes que controlan características de interés (Stendal *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2010; Kumar *et al.*, 2010; Jantaboon *et al.*, 2011; Zheng y Liu, 2013). Para poder utilizar MAS, es necesario encontrar marcadores moleculares asociados a dichas características, utilizando generalmente poblaciones específicamente diseñadas para tal fin (*i.e.*, poblaciones de mapeo) que permiten detectar loci ligados a estos caracteres cuantitativos de interés, *i.e.*, QTLs.

Una población pública de mapeo ampliamente utilizada en maíz, es la población de líneas recombinantes (RILs) denominada IBM (B73×Mo17) Syn4 (Davis *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2002) que deriva de las líneas endocriadas B73 y Mo17. Mickelson *et al.* (2002) ha detectado diferencias significativas para características de la arquitectura de planta en dichas líneas parentales, por lo que la mencionada población de mapeo permitiría estudiar con detalle las bases genéticas que determinan su expresión. Estudios ecofisiológicos realizados sobre esta población permitieron detectar regiones cromosómicas y QTLs que gobiernan las variaciones del PG y NG en condiciones potenciales (Alvarez Prado *et al.*, 2013; Amelong *et al.*, 2015).

Dentro de las características asociadas a la arquitectura de planta, AP y AE fueron frecuentemente estudiadas (Kraja y Dudley, 2000; Sibov *et al.*, 2003; Lima *et al.*, 2006; Malosetti *et al.*, 2008; Bai *et al.*, 2010; Peiffer *et al.*, 2014) y se han encontrado y localizado QTLs en diferentes regiones cromosómicas. Asimismo, varios estudios han sido realizados sobre AV y VOH (Mickelson *et al.*, 2002; Lu *et al.*, 2007; Ku *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2015) (Mickelson *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2015; Lu *et al.*, 2007; Ku *et al.*, 2010). A pesar de la gran influencia de la D sobre la arquitectura de las plantas, el mapeo de QTLs para la respuesta de estos rasgos a la D ha sido poco explorado. Gonzalo *et al.* (2006), evaluaron una población de 56 líneas de introgresión segmentada (SILs) donde se determinaron en D contrastantes atributos tales como AE, AP, intervalo entre floración masculina y femenina, RGP y NGP. Estos autores, identificaron interacción entre segmentos cromosómicos y D y resaltaron la importancia de estudiar el AV ya que encontraron coincidencia entre uno de los loci relacionados al RG (UMC107) y un QTL mayor para AV detectado por Mickelson *et al.* (2002). En un trabajo posterior, Gonzalo *et al.* (2010), analizando en una población de RILs B73×Mo17 los mismos atributos que en Gonzalo *et al.* (2006) en D contrastantes, sugirieron que el control genético de los rasgos evaluados es multi-génico en su respuesta a la D. Adicionalmente, Ku *et al.* (2015), detectaron para dos D, QTL para AP, AE y la relación AE/AP, y sugirieron que la AP podría estar controlada por un conjunto común de genes que sería influenciado por mecanismos genéticos adicionales cuando las plantas crecen en AD. Mickelson *et al.* (2002), identificaron QTLs para AV en maíz mientras que Ku *et al.* (2010) y Ku *et al.* (2012) no sólo identificaron QTLs para AV sino también para VOH, pero en estas investigaciones sólo se utilizó una sola D. Hasta la fecha no hay trabajos en los que se hayan estudiado conjuntamente diferentes atributos de la arquitectura de la planta (*i.e.*, AE/AP, AP, AE, D, AV, AZ, VOH, AF y sus componentes), en D contrastantes con la finalidad de identificar aquellos QTLs involucrados en la tolerancia a la AD en el cultivo de maíz, así como la variabilidad genética de estos rasgos, las correlaciones entre los mismos y su heredabilidad.

### 1.3. Objetivos

### 1.3.1. Objetivo general

Analizar la respuesta de los determinantes fisiológicos del rendimiento y los rasgos arquitecturales de importancia para la determinación de la tolerancia al incremento en la densidad de plantas en híbridos de maíz liberados en las últimas cuatro décadas y estudiar las bases genéticas que gobiernan la variación de dichos rasgos arquitecturales.

### 1.3.2. Objetivos Específicos

- i. Analizar el efecto del genotipo, la densidad y su interacción sobre los determinantes fisiológicos del rendimiento de híbridos argentinos de maíz liberados en las últimas cuatro décadas.
- ii. Analizar el efecto del genotipo, la densidad y su interacción sobre la arquitectura de las plantas.
- iii. Determinar el impacto de los rasgos arquitecturales sobre el crecimiento de las plantas en el período crítico y la fijación de granos en híbridos argentinos de maíz liberados en las últimas cuatro décadas en densidades de plantas contrastantes.
- iv. Caracterizar fenotípicamente una población de líneas recombinantes de maíz (RILs) para los rasgos arquitecturales de planta sensibles al incremento de la densidad de plantas.
- v. Determinar la distribución poblacional de cada rasgo analizado en iv, su variabilidad genética, las correlaciones entre ellas y la heredabilidad con el fin de establecer si estos rasgos son candidatos a tenerse en cuenta en el proceso de selección dentro de un programa de mejoramiento para el desarrollo de genotipos tolerantes a altas densidades de plantas.
- vi. Estudiar regiones genómicas involucradas en la determinación de estos caracteres así como los efectos (QTLs) en densidades de plantas contrastantes.

### 1.4. Hipótesis de trabajo

1. Los híbridos modernos, ante incrementos en la densidad de plantas, presentan una menor reducción en el crecimiento medio individual de las plantas ( $TCP_{PC}$ ) y una mayor fijación de granos por unidad de crecimiento de la espiga apical ( $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$ ) que los híbridos antiguos, lo que genera, junto a un sostenido PG, un mayor rendimiento de granos por planta.
2. Los híbridos modernos, presentan una estructura de planta más compacta que aumenta la intercepción de luz a la altura de la espiga con un consecuente aumento de  $TCP_{PC}$  y  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$  bajo condiciones de canopeos densos (*i.e.*, altas densidades de plantas).
3. Existe variabilidad dentro de la población de RILs IBM (B73×Mo17) Syn4 para los rasgos arquitecturales, que conjuntamente con información de marcadores moleculares, permite detectar regiones genómicas y QTLs determinantes de los mismos.
4. Existen QTLs para ciertos rasgos arquitecturales asociados a la tolerancia a alta densidad de plantas que se co-localizan en una misma región genómica.

**Determinación del rendimiento de grano en híbridos de maíz liberados en las últimas cuatro décadas: diferencias en las estrategias de fijación de granos para mitigar el estrés por alta densidad<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>El contenido de este capítulo fue parcialmente publicado en Ciancio, N., Parco, M., Incognito, S.J.P. y Maddonni, G.A., 2016. Kernel setting at the apical and sub-apical ear of older and newer Argentinean maize hybrids. *Field Crops Res.*, 191, 101-110 y en las tesis de grado (FAUBA) de Parco, M. y Ciancio, N.

## 2.1. Introducción

El incremento de la densidad de plantas (D) en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) es una de las estrategias de manejo más utilizadas para maximizar el RG. En EE.UU., la D y el RG tendieron a incrementarse juntos (Mansfield y Mumm, 2014). Por ejemplo, para el período 1930-2010, la D aumentó de 30000 pl ha<sup>-1</sup> a 70000 pl ha<sup>-1</sup>, y el RG lo hizo desde 1287 kg ha<sup>-1</sup> a 9595 kg ha<sup>-1</sup>. Esta tendencia pone de manifiesto que i) la D<sub>op</sub> que maximiza el RG en el cultivo de maíz es mayor en los híbridos más nuevos que en los más antiguos y ii) los híbridos más nuevos toleran mejor la AD, fácilmente expresable en el mayor RG por planta (RGP) en la D<sub>op</sub> de cada década (43 g pl<sup>-1</sup> para 30000 pl ha<sup>-1</sup> en 1930 y 137 g pl<sup>-1</sup> para 70000 pl ha<sup>-1</sup> en 2010). En Argentina, tanto la D como el RG también se incrementaron durante los últimos 45 años como producto de una mayor estabilidad de este rasgo ante cambios del ambiente (Di Matteo *et al.*, 2016).

Una forma de simplificar el estudio de un rasgo complejo como el RG, es analizar individualmente los mecanismos fisiológicos relacionados con la determinación de los dos componentes principales del mismo, el NG y el PG. A pesar de que ambos componentes afectan el RG final (Borrás y Gambín, 2010), en general, el NG explica la mayor parte de la variación en el RG entre ambientes y genotipos (Early *et al.*, 1967; Otegui *et al.*, 1995; Chapman y Edmeades, 1999). Esta relación fue también observada en híbridos Argentinos liberados en diferentes décadas, donde la ganancia en RG estuvo principalmente asociada al incremento en el NG que superó la compensación entre el NG y el PG (Echarte *et al.*, 2000; Di Matteo *et al.*, 2016).

Cuando disminuimos la escala de investigación, se observa que a nivel de planta individual, las variaciones del RGP se encuentran principalmente determinadas por los cambios en el NGP, sumatoria del NG de la espiga apical (NGE<sub>1</sub>) y sub-apical (NGE<sub>2</sub>). Ambos, NGE<sub>1</sub> y NGE<sub>2</sub> dependen de la TCE apical (TCE<sub>1PC</sub>) y TCE sub-apical (TCE<sub>2PC</sub>), respectivamente, alrededor de floración femenina (R<sub>1</sub>; Ritchie *et al.*, 1993) y de la eficiencia para fijar granos por unidad de TCE (*i.e.*, NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> y NGE<sub>2</sub> TCE<sub>2PC</sub><sup>-1</sup>). Las TCE<sub>1-2</sub> dependen de la TCP<sub>PC</sub> y de la biomasa particionada a estos órganos (*i.e.*, TCE<sub>1PC</sub> TCP<sub>PC</sub><sup>-1</sup> y TCE<sub>2PC</sub> TCP<sub>PC</sub><sup>-1</sup>).

Varios estudios han cuantificado las variaciones del NGE<sub>1</sub> y NGE<sub>2</sub> de híbridos de maíz antiguos y nuevos cultivados en densidades de plantas contrastantes (Tollenaar *et al.*, 1992; Echarte *et al.*, 2000; Sangoi *et al.*, 2002; Echarte *et al.*, 2004). Sin embargo, sólo los rasgos determinantes de NGE<sub>1</sub> fueron estudiados a nivel de planta utilizando técnicas no destructivas (Echarte *et al.*, 2004). A partir de estos estudios se estableció que los híbridos más nuevos establecen más NGE<sub>1</sub> que los más antiguos en AD (es decir, plantas con baja TCP<sub>PC</sub>) debido a una mayor TCE<sub>1PC</sub> TCP<sub>PC</sub><sup>-1</sup>. A bajas densidades (es decir, plantas con alta TCP<sub>PC</sub> producto de una mayor disponibilidad de recursos por unidad de superficie), el mayor NGE<sub>1</sub> de los híbridos más nuevos fue determinado por la mayor NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup>. Además, varios autores establecieron relaciones hiperbólicas para comparar las relaciones NGE<sub>1</sub> vs TCP<sub>PC</sub> y NGP vs TCP<sub>PC</sub> entre varios híbridos, mientras que para NGE<sub>2</sub> sólo se documentaron valores umbrales de TCP<sub>PC</sub> (> 4-6 g d<sup>-1</sup>) para la fijación de granos, los cuales variaron entre genotipos (Tollenaar *et al.*, 1992; Andrade *et al.*, 1999a; Tollenaar y Wu, 1999; Vega *et al.*, 2001a; Vega *et al.*, 2001b). Sin embargo, las diferencias entre híbridos de maíz antiguos y modernos para los rasgos determinantes del NGE<sub>2</sub> (*i.e.*, TCE<sub>2PC</sub> TCP<sub>PC</sub><sup>-1</sup> y NGE<sub>2</sub> TCE<sub>2PC</sub><sup>-1</sup>) nunca fueron informadas. El estudio conjunto de los rasgos relacionados con el NGE<sub>1</sub> y el NGE<sub>2</sub> podrían mejorar el conocimiento sobre la composición del RG del cultivo de maíz bajo "estrategias ofensivas y defensivas de manejo". Por ejemplo, un genotipo sembrado en ambientes de elevada potencialidad en AD (estrategia ofensiva de manejo) compondría el RG basado en el NGE<sub>1</sub> de las plantas del *stand*, mientras que ese genotipo en

ambientes de baja potencialidad (v.g., áreas con distribución irregular de lluvias) en baja D (manejo defensivo), podría estabilizar el RG a través de la fijación de granos tanto en  $E_1$  como en  $E_2$  (Popp *et al.*, 2006; Birch *et al.*, 2008; Tokatlidis *et al.*, 2011; Berzsenyi y Tokatlidis, 2012). Por otro lado, la distinta estabilidad del RG entre genotipos, ante cambios del ambiente, podría estar asociada a las diferentes estrategias para fijar granos en alta y bajas  $TCP_{PC}$ .

En este capítulo se analizarán las diferencias genóticas en RGP y sus componentes numéricos (NGP y PG), pero principalmente aquellos rasgos relacionados con  $NGE_1$  y el  $NGE_2$ , de cuatro híbridos comerciales de maíz liberados durante las últimas décadas en Argentina. Para ello se condujeron dos experimentos a campo con tres densidades de plantas (baja, media y AD) para lograr un amplio rango de  $TCP_{PC}$ . Estos experimentos ponen a prueba la primera hipótesis de esta tesis sobre la que se formuló el primer objetivo específico.

#### *Hipótesis:*

Los híbridos modernos, ante incrementos en la densidad de plantas, presentan una menor reducción en el crecimiento medio individual de las plantas ( $TCP_{PC}$ ) y una mayor fijación de granos por unidad de crecimiento de la espiga apical ( $NGE_1 TCE_{IPC}^{-1}$ ) que los híbridos antiguos, lo que genera, junto a un sostenido PG, un mayor RGP.

#### *Objetivo específico:*

Analizar el efecto del genotipo, la densidad y su interacción sobre los determinantes fisiológicos del rendimiento de híbridos argentinos de maíz liberados en las últimas cuatro décadas.

## **2.2. Materiales y Métodos**

### **2.2.1. Manejo del cultivo y diseño experimental**

Los experimentos se llevaron a cabo en el campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (FA-UBA; 34° 35'S, 58° 29'O) sobre un suelo arcillo-limoso (Argiudol Vértico), durante 2012-2013 y 2013-2014. Cuatro híbridos argentinos de maíz representativos de las décadas del 80', 90', 00' y 10' (DK3F22, DK752, DK747 y DK72-10, respectivamente) fueron cultivados en tres densidades de plantas (4, 8 y 12 pl m<sup>-2</sup>) siguiendo un diseño de parcelas divididas con tres repeticiones. Estos híbridos fueron seleccionados debido a su importancia comercial en el área bajo estudio. Después de su lanzamiento, todos los híbridos seleccionados estuvieron entre los híbridos más sembrados por al menos 5 años. Las densidades de plantas fueron asignadas a las parcelas principales y los híbridos a las sub-parcelas. Cada sub-parcela involucró tres hileras de 4 m de longitud espaciadas a 0.70 m.

Los ensayos se sembraron manualmente el 29 de Noviembre de 2012 (Exp<sub>1</sub>) y el 22 de Octubre de 2013 (Exp<sub>2</sub>) con el objetivo de explorar un amplio rango de condiciones climáticas alrededor de la fecha de  $R_1$  (Fig. 2.1). Para asegurar el *stand* final de plantas, se sembraron 3 semillas por golpe y posteriormente, en el estado de 3 hojas liguladas ( $V_3$ ) (Ritchie *et al.*, 1993), se raleó a una planta por posición. Los experimentos se fertilizaron con fosfato diamónico a la siembra y con urea en  $V_4$ - $V_6$ , totalizando una dosis de 150 kg N ha<sup>-1</sup>. Las malezas, plagas y enfermedades se controlaron mecánicamente y químicamente. La humedad del suelo se mantuvo cercana a capacidad de campo durante todo el ciclo del cultivo utilizando riego por goteo. Aunque la alta variabilidad en la disponibilidad de agua es característica de las zonas templadas semiáridas, en los experimentos se empleó riego complementario para evaluar la fijación de granos en ambas espigas ante diferentes  $TCP_{PC}$  (promovidas por las combinaciones entre

densidades de plantas y condiciones ambientales). La  $TCP_{PC}$  es tomada como un indicador de la cantidad de carbono disponible para las plantas, y resulta un buen predictor de la capacidad de las plantas para fijar granos en una amplia gama de condiciones ambientales (deficiencias de agua, deficiencias de N, sombreado) y prácticas de manejo (Andrade *et al.*, 2002).

### 2.2.2. Mediciones

En la hilera central de cada sub-parcela se marcaron de 6 a 10 plantas consecutivas en competencia perfecta (dependiendo de la densidad) de igual tamaño y similar estado fenológico ( $V_3$ ). Para cada planta, se registró semanalmente el número de hojas liguladas (estados  $V_n$ ). También se llevaron a cabo observaciones diarias de la ejerción de los estigmas desde la  $E_1$  y  $E_2$  y los datos de  $R_1$  de estas espigas se registraron cuando al menos un estigma fue visible. Se utilizaron modelos alométricos no destructivos para estimar la biomasa vegetativa de las plantas marcadas a (i) *ca.* 15 días antes de  $R_1$  de la espiga apical, (ii)  $R_1$  de la espiga apical y (iii) 15 días después de  $R_1$  de la espiga apical. Las mediciones involucraron el diámetro máximo y mínimo de la base del tallo y la AP y diámetro de la espiga apical y sub-apical cuando estuvo presente. Asimismo, los modelos alométricos también se utilizaron para estimar la biomasa de la  $E_1$  y  $E_2$  de cada planta marcada al momento de  $R_1$  de cada espiga y a los 15 días de dicho estado ontogénico, usando las mediciones del diámetro máximo de las espigas. La biomasa total de la planta al momento de  $R_1$  de la espiga apical y 15 días después de dicho estado, se computó como la suma de la biomasa vegetativa estimada y aquella proveniente de la  $E_1$  y  $E_2$ . Esta técnica no destructiva se utilizó ampliamente en maíz para estimar  $TCP_{PC}$  y  $TCE_{1PC}$  de las plantas marcadas permaneciendo en el campo hasta la cosecha (Vega *et al.*, 2001a; Echarte *et al.*, 2004; Pagano *et al.*, 2007; Rossini *et al.*, 2011; Laserna *et al.*, 2012). Hasta el momento de la realización de esta tesis, esta metodología nunca había sido utilizada para estimar la  $TCE_{2PC}$ .

Durante el  $Exp_1$  y  $Exp_2$ , los modelos alométricos se construyeron con plantas de cada híbrido ( $n > 20$  plantas por híbrido  $\times$  densidad de plantas  $\times$  Exp) muestreadas a lo largo del período pre- y post- $R_1$ . Las mediciones descritas anteriormente se realizaron sobre estas plantas muestreadas. La biomasa vegetativa (tallos + hojas + panoja) se estimó sobre la base de funciones lineales o bi-lineales ajustadas al peso seco vegetativo total y al volumen del tallo (Cuadro 1) considerando la ecuación del volumen del cilindro [Ec. (1)].

$$V = \pi \times \left(\frac{DT}{2}\right)^2 \times AP \quad (1)$$

donde DT es el diámetro medio de la base del tallo (cm) y AP es la altura del tallo (cm).

La biomasa de  $E_1$  y  $E_2$  (chapas + marlo + flores) al momento de  $R_1$  y 15 días después, se estimó usando una función exponencial ajustada al peso seco de la espiga y al diámetro máximo (mm) de la espigas muestreadas de cada genotipo (Cuadro 2.1). A madurez fisiológica, las plantas marcadas se cosecharon individualmente y se registraron RGP, prolificidad, *i.e.*, espigas por planta con más de diez granos (Tollenaar *et al.*, 1992),  $NGE_1$  y  $NGE_2$ .

**Cuadro 2.1.** Parámetros de los modelos alométricos (detalles al pie del cuadro) usados para estimar la biomasa vegetativa (tallo + hojas + panoja) y la biomasa de espiga apical y sub-apical. Para cada modelo, son detallados el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) y el número ( $n$ ) de plantas muestreadas.

Híbrido	Biomasa vegetativa						Biomasa de espiga			
	$a$	$b$	$c$	$d$	$r^2$	$n$	$e$	$f$	$r^2$	$n$
DK3F22	13.5	0.15			0.92	141	1.43	0.07	0.92	132
DK752	20.6	0.13			0.89	142	0.76	0.09	0.92	156
DK747	9.8	0.14	886.6	0.06	0.86	146	1.29	0.08	0.93	128
DK72-10	12.8	0.13	1017.0	0.04	0.85	141	1.72	0.07	0.90	139

Desde  $V_3$  a  $R_1$ :  $biomasa\ aérea = a + b*Vol\ (cm^3)$ . ó  $a+b*Vol$  si  $Vol \leq c$  y  $a+b*c + d*(Vol-c)$  si  $Vol > c$ .

En  $R_1$  y  $R_2$ .  $biomasa\ de\ espiga = e*2.718^f * diámetro\ de\ espiga\ (mm)$

### 2.2.3. Relaciones funcionales y análisis de datos

La  $TCP_{PC}$  se estimó a partir de la pendiente de la regresión lineal ajustada a la biomasa de planta en los tres estados (*ca.* de los 15 días antes de la fecha de  $R_1$  de la  $E_1$ , fecha de  $R_1$  de la  $E_2$  y 15 días después de la fecha de  $R_1$  de  $E_2$ ) y el tiempo en días desde la siembra. Similarmente,  $TCE_{1PC}$  y  $TCE_{2PC}$  se estimó a partir de la pendiente de la regresión lineal ajustada para la biomasa de espiga a (i) *ca.* 15 días antes de la fecha de  $R_1$  de  $E_1$  (*i.e.*, biomasa de la espiga cercana a cero) (Otegui y Bonhomme, 1998), (ii) la fecha de  $R_1$  de cada espiga y (iii) 15 días después de estas fechas y el tiempo desde la siembra. Para las plantas que no presentaron excreción de los estigmas en  $E_2$ ,  $TCE_{2PC}$  fue computada como cero. La partición de biomasa a espigas se estimó a través de la relación entre la  $TCE_{1PC}$  o la  $TCE_{2PC}$  y la  $TCP_{PC}$  (Vega *et al.*, 2001a; Vega *et al.*, 2001b; Pagano *et al.*, 2007; Laserna *et al.*, 2012). Finalmente, la relación entre  $NGP$   $TCP_{PC}^{-1}$  se utilizó para estimar la eficiencia en la fijación de los granos a nivel de planta. Similarmente,  $NGE_1$   $TCE_{1PC}^{-1}$  y  $NGE_2$   $TCE_{2PC}^{-1}$  se calcularon para estimar la eficiencia en la fijación de los granos de cada espiga (Vega *et al.*, 2001a; Laserna *et al.*, 2012). Para  $NGE_2$   $TCE_{2PC}^{-1}$ , sólo se computaron las plantas con  $NGE_2 > 10$ . Para cada genotipo, se ajustó una función hiperbólica para  $NGP$  vs  $TCP_{PC}$ ,  $NGE_1$  vs  $TCE_{1PC}$  y  $NGE_2$  vs  $TCE_{2PC}$  basada en la función curvilínea propuesta por Vega *et al.* (2001b) para  $NGE_1$  vs  $TCP_{1PC}$  [Ec. (2)].

$$NGE_1 = \frac{a(TCP_{PC} - TCP_{PCU})}{1 + b(TCP_{PC} - TCP_{PCU})}, \text{ para } TCP_{PC} > TCP_{PCU} \quad (2)$$

donde  $a$  es la pendiente inicial (indicativa de la eficiencia en la fijación de los granos a  $TCP_{PC}$  bajas),  $TCP_{PCU}$  es el valor umbral de  $TCP_{PC}$  por debajo del cual  $NGE_1 = 0$  (*i.e.*, un umbral para esterilidad de planta) y  $b$  es el coeficiente de curvilinealidad de la función hiperbólica a  $TCP_{PC}$  altas (*i.e.*, la inversa de la eficiencia en la fijación de los granos a  $TCP_{PC}$  altas). Particularmente,  $a$  y  $TCP_{PCU}$  son parámetros que describen la tolerancia de un material a la AD.

Particularmente para  $NGE_2$  vs  $TCE_{2PC}$ , se usaron plantas con valores positivos de  $TCE_{2PC}$  para ajustar el modelo curvilínea [Ec. (2)]. Así, las plantas con  $NGE_2 = 0$  pero con  $TCE_{2PC} > 0$  fueron útiles para estimar  $TCE_{2PCU}$ .

Los efectos de los experimentos, densidad de plantas, híbridos y sus interacciones sobre los rasgos medidos se evaluaron mediante un análisis de la varianza (ANVA) basado sobre las correspondientes fuentes de error de un diseño de sub-parcelas. El experimento se incluyó como una variable clasificatoria. Un ANVA se llevó a cabo para cada experimento a fin de explorar la interacción densidad  $\times$  híbrido para todos los

rasgos dentro de cada experimento. La prueba de diferencia mínima significativa (DMS) de Fisher se utilizó para establecer la existencia de diferencias significativas entre valores medios. Las funciones ajustadas a las relaciones entre rasgos se llevaron a cabo usando GraphPad Prism (GraphPad Prism version 6.00 para Windows) y la hipótesis nula de una misma curva fue testeada con un  $\alpha = 0.05$ . Se usó un intervalo de confianza del 95% para estimar las diferencias significativas entre híbridos para los parámetros de las funciones ajustadas. Se utilizó una matriz de correlación para explorar las correlaciones lineales entre rasgos.

## 2.3. Resultados

### 2.3.1. Descripción de las condiciones climáticas durante los experimentos

La radiación total durante el Exp<sub>1</sub> fue 6.6% menor que durante el Exp<sub>2</sub> (Fig. 2.1A). Similarmente, la temperatura media del aire fue levemente menor en el Exp<sub>1</sub> (23.2 °C) que en el Exp<sub>2</sub> (23.5°C) (Fig. 2.1B). El período crítico de los híbridos en el Exp<sub>1</sub> ocupó un intervalo de tiempo que fue desde mediados de Enero a mediados de Febrero, mientras que el mismo período en el Exp<sub>2</sub> se extendió desde mediados de Diciembre a mediados de Enero. Así, durante este período, los cultivos del Exp<sub>1</sub> estuvieron expuestos a menores temperaturas medias del aire (*ca.* 25.2 °C *vs* 27.1 °C para Exp<sub>1</sub> y Exp<sub>2</sub>; respectivamente), mayores (8.4%) valores de radiación solar incidente y menos días con temperaturas máximas por encima de los 35 °C (*i.e.*, menos eventos de estrés térmico) (Fig. 2.1C) que los del Exp<sub>2</sub>.

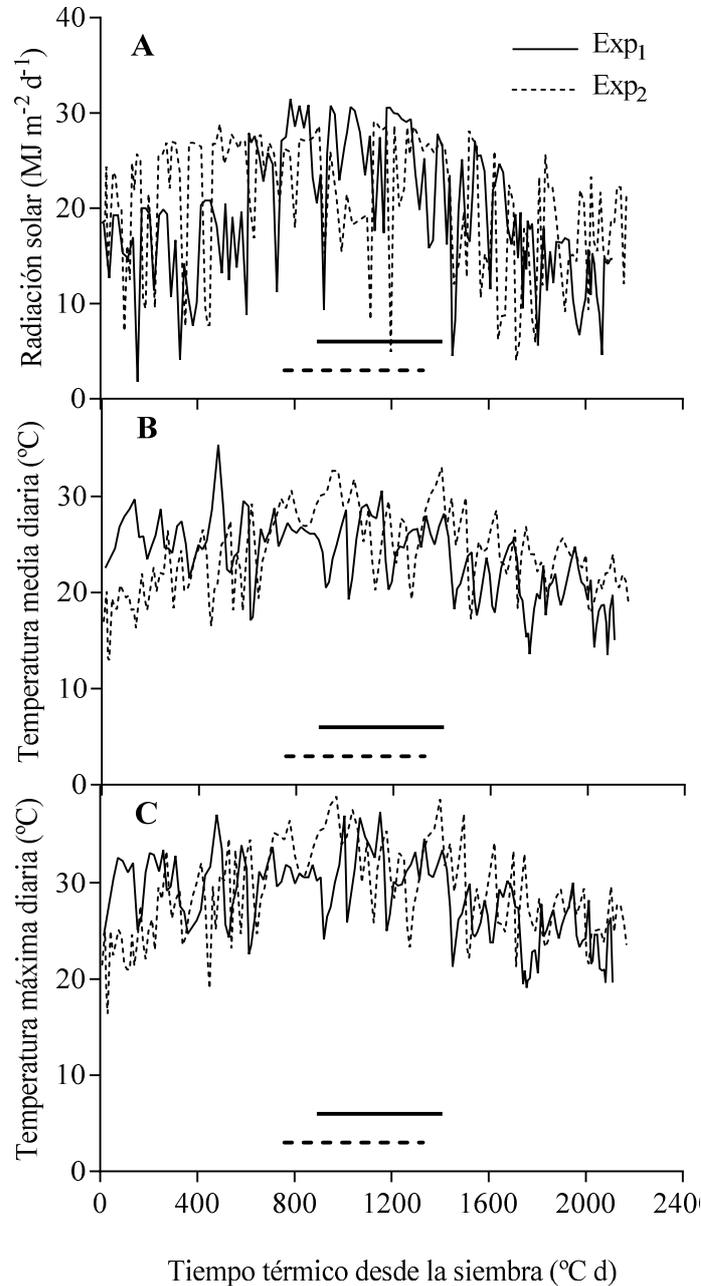
### 2.3.2. Tasa de crecimiento de planta y de espiga, fijación y peso de granos y rendimiento de grano por planta

Las diferencias en las condiciones ambientales entre Exps se reflejaron en varios rasgos de la planta. Así, la TCP<sub>PC</sub> en el Exp<sub>1</sub> fue mayor ( $p < 0.05$ ) que en el Exp<sub>2</sub> y en ambos Exps la TCP<sub>PC</sub> decreció ( $p < 0.001$ ) en respuesta al incremento en la densidad de plantas (Cuadro 2.2). A pesar de que la interacción Exp  $\times$  densidad para TCP<sub>PC</sub> resultó significativa ( $p < 0.10$ ), el ranking de TCP<sub>PC</sub> entre densidades no varió con el Exp. (Cuadro Suplementario 6.1). La TCP<sub>PC</sub> de los híbridos difirió solamente en la densidad más baja con un ranking de orden diferente entre Exps ( $p < 0.10$  para la interacción Exp  $\times$  densidad  $\times$  híbrido). A esta densidad, DK752 en Exp<sub>1</sub> y DK747 Exp<sub>2</sub> exhibieron las menores TCP<sub>PC</sub> (Cuadro Suplementario 6.1). No fue detectada interacción significativa híbrido  $\times$  densidad para TCP<sub>PC</sub> (Cuadro 2.2).

Para TCE<sub>1PC</sub>, TCE<sub>2PC</sub> y prolificidad se detectó interacción significativa ( $p < 0.05$ ) Exp  $\times$  densidad (Cuadro 2.2). A la menor densidad, TCE<sub>1PC</sub> no difirió entre Exps pero a densidad media y alta la TCE<sub>1PC</sub> fue mayor en Exp<sub>1</sub> que en el Exp<sub>2</sub> (Cuadro Suplementario 6.1). Por el contrario, TCE<sub>2PC</sub> (*ca.* 1.24 y 0.98 g d<sup>-1</sup> en Exp<sub>1</sub> y Exp<sub>2</sub>; respectivamente) y prolificidad (*ca.* 1.78 y 1.62 espigas pl<sup>-1</sup>; en Exp<sub>1</sub> y Exp<sub>2</sub>; respectivamente) solo difirieron entre Exps a la densidad más baja (Cuadro Suplementario 6.1). En ambos Exps y en todas las densidades, el híbrido más antiguo (DK3F22) tuvo la menor ( $p < 0.001$ ) TCE<sub>1PC</sub> mientras que la TCE<sub>2PC</sub> fue similar entre genotipos (Cuadro 2.2). Sólo a la menor densidad se registraron diferencias entre genotipos para prolificidad ( $p < 0.05$  para la interacción híbrido  $\times$  densidad. Cuadro Suplementario 6.1). En esta densidad, DK72-10 (*ca.* 1.77 espigas pl<sup>-1</sup>) y DK752 (*ca.* 1.88 espigas pl<sup>-1</sup>) exhibieron mayor prolificidad que DK747 (*ca.* 1.59 espigas pl<sup>-1</sup>) y DK3F22 (*ca.* 1.55 espigas pl<sup>-1</sup>).

La interacción Exp  $\times$  híbrido fue significativa ( $p < 0.01$ ) para NGE<sub>1</sub> (Cuadro 2.2). En el Exp<sub>1</sub>, DK747 y DK72-10 alcanzaron un mayor NGE<sub>1</sub> que DK3F22 y DK752 (Cuadro

Suplementario 6.1). Por el contrario, en el Exp<sub>2</sub> NGE<sub>1</sub> difirió entre todos los híbridos y este rasgo se incrementó con los años de liberación. La densidad de plantas afectó el NGE<sub>2</sub> ( $p < 0.001$ ) y DK3F22 tuvo un mayor NGE<sub>2</sub> ( $p < 0.1$ ) que DK752 y DK747 (Cuadro 2.2).



**Figura 2.1.** Radiación solar (A), temperatura media del aire (B) y temperatura máxima (C) durante dos estaciones de crecimiento del cultivo (líneas continuas; Exp<sub>1</sub>, líneas discontinuas; Exp<sub>2</sub>). El tiempo desde la siembra es expresado en unidades de tiempo térmico con una temperatura base de 8 °C. Las líneas horizontales representan la extensión del período crítico de los híbridos testeados en cada experimento.

En ambos Exps, NGP decreció ( $p < 0.001$ ) a medida que la densidad de plantas se incrementó y en todas las densidades DK3F22 exhibió el menor ( $p < 0.001$ ) NGP, DK752 y DK747 valores intermedios y DK72-10 el mayor (Cuadro 2.2 y Cuadro Suplementario 6.1).

**Cuadro 2.2.** Tasa de crecimiento de planta (TCP<sub>PC</sub>), espiga apical (TCE<sub>1PC</sub>) y espiga sub-apical (TCE<sub>2PC</sub>) durante el período crítico, rendimiento de grano por planta (RGP), número de granos por planta (NGP), de espiga apical (NGE<sub>1</sub>) y de espiga sub-apical (NGE<sub>2</sub>), peso de grano (PG) y prolificidad de cuatro híbridos de maíz (H) cultivados a tres densidades de plantas (D) [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas m<sup>-2</sup>] en dos experimentos a campo (Exp).

		TCP <sub>PC</sub>	TCE <sub>1PC</sub>	TCE <sub>2PC</sub> <sup>a</sup>	RGP	NGP	NGE <sub>1</sub>	NGE <sub>2</sub> <sup>b</sup>	PG	Prolificidad
		(g d <sup>-1</sup> )			(g pl <sup>-1</sup> )				(mg gr <sup>-1</sup> )	(espigas pl <sup>-1</sup> )
Experimento	1	4.01 a	1.96 a	0.49 a	169.4 a	565.8 a	476.8 a	135.1	291.7 a	1.26 a
	2	3.70 b	1.69 b	0.38 b	136 b	522.5 b	455.9 b	113.5	251.7 b	1.21 a
	<i>p</i>	*	***	**	***	*	*	ns	***	†
Densidad	D <sub>4</sub>	5.82 a	2.42 a	1.11 a	234.6 a	807.8 a	577.4 a	327.2 a	289.3 a	1.70 a
	D <sub>8</sub>	3.51 b	1.83 b	0.16 b	134.8 b	487.3 b	482.3 b	43.0 b	272.6 b	1.04 b
	D <sub>12</sub>	2.24 c	1.24 c	0.04 c	88.7 c	337.3 c	339.4 c	2.8 c	253.1 c	0.98 b
	<i>p</i>	***	***	***	***	***	***	***	***	***
Híbrido	DK3F22	3.80 ab	1.64 b	0.43	123.5 d	466.5 c	399.6 d	158.7 a	245.9 c	1.17 b
	DK752	3.64 b	1.84 a	0.46	144.9 c	536.0 b	447.4 c	114.1 ab	267.6 b	1.31 a
	DK747	3.88 ab	1.91 a	0.38	162.9 b	559.8 b	492.8 b	109.0 b	282.45 a	1.20 b
	DK72-10	4.12 a	1.92 a	0.48	179.5 a	614.2 a	525.6 a	115.4 ab	290.71 a	1.26 ab
	<i>p</i>	*	***	ns	***	***	***	†	***	*
Exp × D	<i>p</i>	†	*	*	ns	ns	ns	ns	**	*
Exp × H	<i>p</i>	**	ns	ns	ns	ns	**	ns	†	ns
H × D	<i>p</i>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	†	*
Exp × D × H	<i>p</i>	†	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Dentro de cada columna, letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). El nivel de significancia de los tratamientos y las interacciones son indicadas con símbolos: †  $p < 0.1$ ; \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ . ns: diferencias no significativas.

<sup>a</sup> Los valores medios de TCE<sub>2PC</sub> incluyeron plantas con TCE<sub>2PC</sub> ≥ 0.

<sup>b</sup> Los valores medios de NGE<sub>2</sub> incluyeron plantas con NGE<sub>2</sub> ≥ 0.

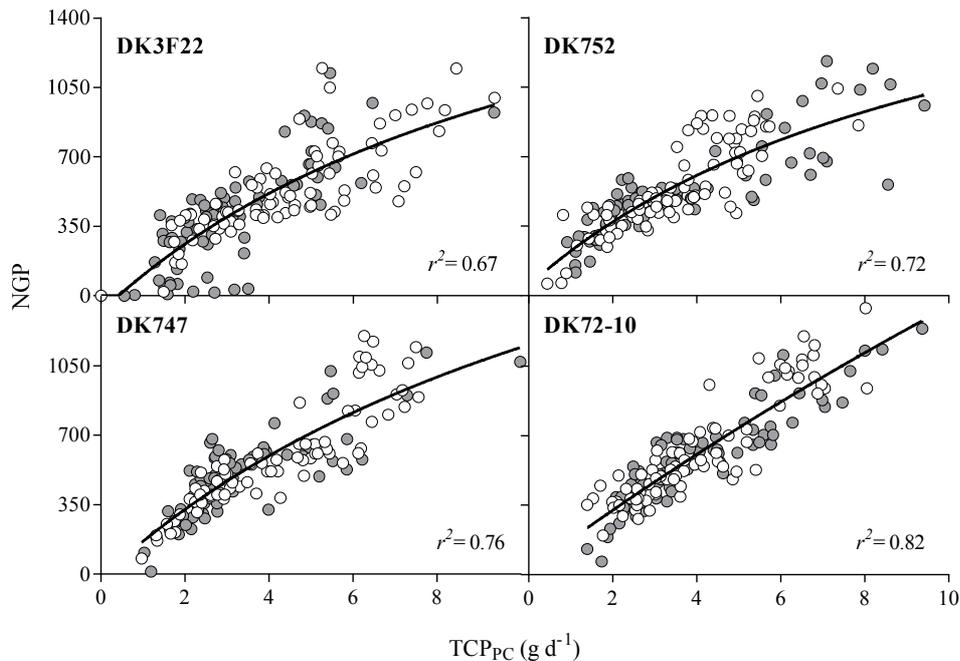
Se registraron interacciones significativas  $\text{Exp} \times \text{densidad}$ ,  $\text{Exp} \times \text{híbrido}$  e  $\text{híbrido} \times \text{densidad}$  ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.1$  y  $p < 0.1$ ; respectivamente) sobre el PG. En el  $\text{Exp}_1$ , el PG a densidad media y baja superó al PG alcanzado en la mayor densidad mientras que en el  $\text{Exp}_2$ , el PG en la densidad más baja superó a los alcanzados en las densidades media y alta (Cuadro 2.2 y Cuadro Suplementario 6.1). El PG de DK72-10 y DK747 superó significativamente al de DK752 y DK3F22 en el  $\text{Exp}_1$  mientras que en el  $\text{Exp}_2$  no se presentaron diferencias para el PG de DK72-10, DK747 y DK752, pero el PG de estos híbridos fue mayor que el alcanzado por DK3F22 (Cuadro 2.2 y Cuadro Suplementario 6.1). El PG de DK747 y DK72-10 no difirió entre sí y superaron significativamente a DK752 y DK3F22 en la densidad más baja y en la intermedia. Sin embargo, en la densidad más alta DK72-10 presentó el mayor PG (Cuadro 2.2 y Cuadro Suplementario 6.1).

El RGP fue un 24% superior ( $p < 0.001$ ) en el  $\text{Exp}_1$  que en el  $\text{Exp}_2$  y decreció significativamente ( $p < 0.001$ ) con el incremento en la densidad de plantas, mostrando una disminución de 99.8, 145.9 y 46.1 g  $\text{pl}^{-1}$  al incrementarse las densidades de baja a media, baja a alta y de media a alta; respectivamente (Cuadro 2.2). El híbrido DK72-10 superó significativamente ( $p < 0.001$ ) al resto con un RGP 45% superior al del híbrido más antiguo (DK3F22) (Cuadro 2.2). No fueron detectadas interacciones significativas para RGP (Cuadro 2.2).

**Cuadro 2.3.** Parámetros (valores y límites de confianza a  $p < 0.05$ ) de la función curvilínea ajustada a las relaciones entre: i) el número total de granos por planta (NGP) y la tasa de crecimiento de planta durante el período crítico ( $\text{TCP}_{\text{PC}}$ ), ii) número de granos de la espiga apical ( $\text{NGE}_1$ ) y  $\text{TCP}_{\text{PC}}$ , iii)  $\text{NGE}_1$  y la tasa de crecimiento de espiga apical durante el período crítico ( $\text{TCE}_{1\text{PC}}$ ) y iv) número de granos de espiga sub-apical ( $\text{NGE}_2$ ) y la tasa de crecimiento de espiga sub-apical durante el período crítico ( $\text{TCE}_{2\text{PC}}$ ) de cuatro híbridos de maíz cultivados a tres densidades de plantas en dos experimentos a campo. La función curvilínea corresponde a la Eq (2). Para cada función, se detalla el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) y el número de plantas ( $n$ ).

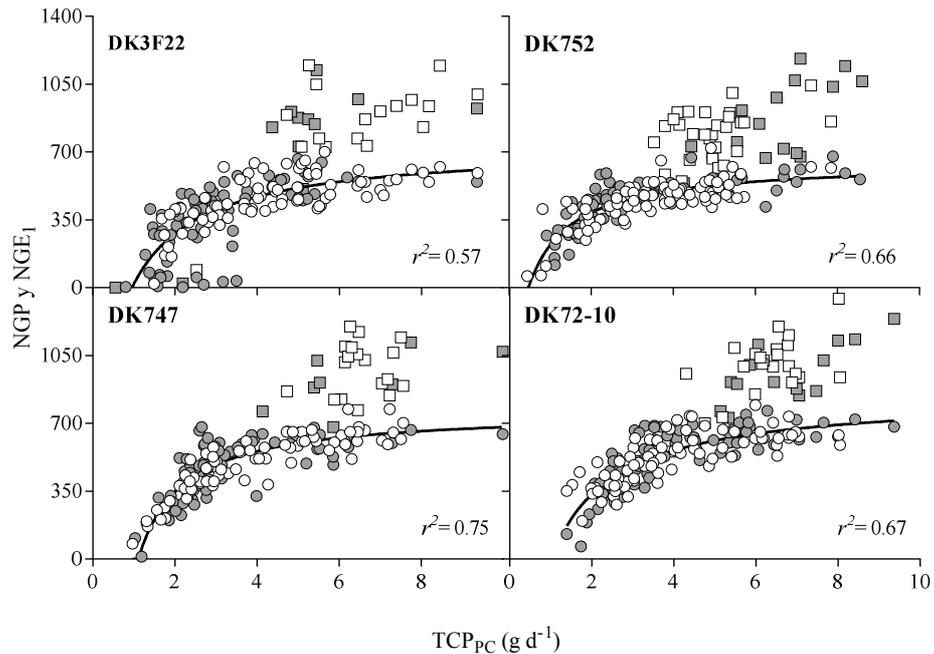
	Híbrido	Parámetros			$r^2 ; n$
		$a$	$b$	Umbral	
NGP vs $\text{TCP}_{\text{PC}}$ ( $p < 0.001$ )	DK3F22	186.5 ± 78.1	0.08 ± 0.09	0.42 ± 0.65	0.67; 160
	DK752	198.4 ± 76.9	0.09 ± 0.08	-0.26 ± 0.68	0.72; 164
	DK747	192.8 ± 76.6	0.07 ± 0.06	0.09 ± 0.70	0.76; 161
	DK72-10	156.4 ± 59.2	0.02 ± 0.05	-0.15 ± 1.11	0.82; 168
$\text{NGE}_1$ vs $\text{TCP}_{\text{PC}}$ ( $p < 0.001$ )	DK3F22	434.2 ± 211.4	0.6 ± 0.40	0.96 ± 0.39	0.57; 153
	DK752	627.5 ± 216.8	0.97 ± 0.42	0.47 ± 0.25	0.66; 157
	DK747	710.5 ± 161.6	0.93 ± 0.27	1.11 ± 0.15	0.75; 160
	DK72-10	558.5 ± 183.6	0.66 ± 0.28	1.01 ± 0.31	0.67; 168
$\text{NGE}_1$ vs $\text{TCE}_{1\text{PC}}$ ( $p < 0.001$ )	DK3F22	1014 ± 374.3	1.34 ± 0.70	0.55 ± 0.11	0.66; 157
	DK752	1087 ± 310.3	1.54 ± 0.58	0.45 ± 0.10	0.71; 165
	DK747	1003 ± 235	1.18 ± 0.39	0.52 ± 0.09	0.74; 161
	DK72-10	1802 ± 656	2.32 ± 1.08	0.8 ± 0.10	0.59; 168
$\text{NGE}_2$ vs $\text{TCE}_{2\text{PC}}$ ( $p < 0.001$ )	DK3F22	1122 ± 867.3	2.05 ± 2.39	0.77 ± 0.12	0.77; 80
	DK752	365 ± 131.2	0.13 ± 0.29	0.39 ± 0.11	0.90; 93
	DK747	699 ± 389.9	0.79 ± 0.88	0.68 ± 0.11	0.88; 60
	DK72-10	318.9 ± 107	-0.05 ± 0.19	0.48 ± 0.13	0.92; 82

El NGP respondió positivamente a cambios en la  $TCP_{PC}$  causados por los tratamientos y una función curvilínea explicó más del 67% de la variabilidad de NGP de cada híbrido (Cuadro 2.3 y Fig. 2.2). Se detectaron diferencias entre los híbridos ( $p < 0.001$ ) en las curvas ajustadas (Cuadro 2.3). El híbrido más antiguo fue el único genotipo que produjo plantas estériles cuando la  $TCP_{PC}$  fue menor que  $4 \text{ g pl}^{-1} \text{ d}^{-1}$ . Para el híbrido más nuevo, una función lineal ( $NGP = 133.5 TCP_{PC} + 65.29$ ) describió la respuesta del NGP a la  $TCP_{PC}$  con un coeficiente de determinación ( $r^2 = 0.82$ ) similar a aquel alcanzado por la función curvilínea (Fig. 2.2).



**Figura 2.2.** Relación entre el número de granos por planta (NGP) y la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico ( $TCP_{PC}$ ) de cuatro híbridos de maíz cultivados en tres densidades de plantas y dos experimentos. Cada símbolo identifica una planta (símbolos blancos: datos de Exp<sub>1</sub>, símbolos grises: datos del Exp<sub>2</sub>). Las líneas representan la función curvilínea ajustada al conjunto de datos de cada híbrido. Los coeficientes de determinación son detallados en la figura.

Para todos los híbridos, el mejor ajuste entre  $NGE_1$  y  $TCP_{PC}$  se obtuvo con una función curvilínea que explicó más de un 57% de la variabilidad de  $NGE_1$  (Cuadro 2.3 y Fig. 2.3). Las curvas ajustadas difirieron ( $p < 0.001$ ) entre híbridos. La fijación de granos en la  $E_2$  de todos los híbridos ocurrió cuando la  $TCP_{PC}$  fue mayor a  $4 \text{ g pl}^{-1}$  pero la mayoría de las plantas de DK72-10 exhibieron espigas sub-apicales fértiles cuando la  $TCP_{PC}$  superó los  $6 \text{ g pl}^{-1}$  (Fig. 2.3).



**Figura 2.3.** Relación entre el número de granos por planta (NGP) y de la espiga apical ( $NGE_1$ ) con la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico ( $TCP_{PC}$ ) de cuatro híbridos de maíz cultivados en tres densidades de plantas en dos experimentos (símbolos blancos: datos de Exp<sub>1</sub>, símbolos grises: datos del Exp<sub>2</sub>). Cada símbolo identifica NGP (cuadrados) y  $NGE_1$  (círculos) de una planta. Las líneas representan la función curvilínea ajustada a  $NGE_1$  vs  $TCP_{PC}$  de cada híbrido. Los coeficientes de determinación son detallados en la figura.

### 2.3.3. Partición de biomasa a órganos reproductivos y eficiencia reproductiva

La  $TCE_{1PC} TCP_{PC}^{-1}$  no difirió entre Exps pero la  $TCE_{2PC} TCP_{PC}^{-1}$  en Exp<sub>1</sub> fue mayor ( $p < 0.01$ ) que en Exp<sub>2</sub> (Cuadro 2.4). El híbrido más antiguo (DK3F22) tuvo la menor  $TCE_{1PC} TCP_{PC}^{-1}$  en Exp<sub>1</sub>, pero similar a la de DK72-10 en Exp<sub>2</sub> ( $p < 0.001$  para la interacción Exp  $\times$  híbrido, Cuadro 2.4 y Cuadro Suplementario 6.2). Por el contrario, la mayor  $TCE_{2PC} TCP_{PC}^{-1}$  fue registrada para DK752 en Exp<sub>1</sub> a la menor densidad ( $p < 0.001$  para la interacción Exp  $\times$  densidad, Cuadro 2.4 y Cuadro Suplementario 6.2). La  $TCE_{1PC} TCP_{PC}^{-1}$  de DK752, DK747 y DK72-10 aumentó en respuesta al incremento en la densidad de plantas mientras que la de DK3F22 no fue afectada por la mayor competencia intra-específica ( $p < 0.01$  para la interacción híbrido  $\times$  densidad, Cuadro 2.4 y Cuadro Suplementario 6.2). Por el contrario,  $TCE_{2PC} TCP_{PC}^{-1}$  de todos los híbridos decreció ( $p < 0.001$ ) en respuesta al incremento en la densidad de plantas, pero con un mayor orden de magnitud en Exp<sub>2</sub> ( $p < 0.05$  para la interacción Exp  $\times$  densidad, Cuadro 2.4 y Cuadro Suplementario 6.2) que en el Exp<sub>1</sub>.

Una función lineal describió adecuadamente las relaciones entre  $TCE_{1PC}$  y  $TCP_{PC}$  para cada híbrido ( $r^2 > 0.62$ ) (Fig. 2.4). Las pendientes de DK752 y DK747 fueron las mayores (*i.e.*, mayor respuesta de  $TCE_{1PC}$  a  $TCP_{PC}$ ) ( $p < 0.05$ ) (Cuadro 2.5) y la regresión lineal ajustada para estos híbridos fue cercana a la línea de 0.5 de partición de biomasa a  $E_1$ . Por el contrario, un modelo bi-lineal describió adecuadamente la relación entre  $TCE_{2PC}$  y  $TCP_{PC}$  ( $r^2 > 0.62$ ) (Fig. 2.4 y Cuadro 2.5). Para todos los híbridos, la ordenada y la primera pendiente de la función no difirió de cero (*i.e.*, la partición de biomasa a la espiga sub-apical fue despreciable) hasta valores de  $TCP_{PC}$  mayores que *ca.* 3.1 (DK3F22 y DK752) o de 4.3  $g d^{-1}$  (DK747 y DK72-10). Por encima de estos  $TCP_{PCU}$ , las plantas exhibieron una respuesta  $TCE_{2PC}$  a la  $TCP_{PC}$  que presentó una pendiente positiva y significativa. Esta segunda pendiente fue mayor ( $p < 0.05$ ) en los híbridos más nuevos (DK747 y DK72-10) y algunas plantas exhibieron una  $TCE_{2PC}$  por

encima de la línea 0.25 de partición de biomasa a espiga sub-apical (Fig. 2.4). Por el contrario, casi todas las plantas del híbrido más antiguo (DK3F22) mostraron una TCE<sub>2PC</sub> por debajo de la línea 0.25 de partición de biomasa a espiga sub-apical.

**Cuadro 2.4.** Partición de biomasa a espiga apical (TCE<sub>1PC</sub>/TCP<sub>PC</sub>) y a espiga sub-apical (TCE<sub>2PC</sub>/TCP<sub>PC</sub>) durante el período crítico y eficiencia reproductiva a nivel de planta (NGP/TCP<sub>PC</sub>), a nivel de espiga apical (NGE<sub>1</sub>/TCE<sub>1PC</sub>) y a nivel de espiga sub-apical (NGE<sub>2</sub>/TCE<sub>2PC</sub>) de cuatro híbridos de maíz (H) cultivados a tres densidades de plantas (D) [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas m<sup>-2</sup>] en dos experimentos a campo (Exp).

		TCE <sub>1PC</sub> /TCP <sub>PC</sub>	TCE <sub>2PC</sub> /TCP <sub>PC</sub>	NGP/TCP <sub>PC</sub>	NGE <sub>1</sub> /TCE <sub>1PC</sub>	NGE <sub>2</sub> /TCE <sub>2PC</sub>
		(gr g <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )				
Experimento	1	0.51	0.09 a	142.98	244.6 b	98.7
	2	0.49	0.07 b	146.80	272.4 a	87.3
	<i>p</i>	ns	**	ns	***	ns
Densidad	D <sub>4</sub>	0.43 b	0.19 a	142.39	243.9 b	229.3 a
	D <sub>8</sub>	0.53 a	0.04 b	144.42	268.3 a	46.1 b
	D <sub>12</sub>	0.55 a	0.02 c	147.86	263.3 a	3.8 c
	<i>p</i>	***	***	ns	*	***
Híbrido	DK3F22	0.44 c	0.08 ab	118.8 c	233.0 c	116.5
	DK752	0.56 a	0.09 a	160.8 a	257.2 b	92.0
	DK747	0.51 b	0.07 b	147.8 b	262.0 b	76.4
	DK72-10	0.50 b	0.08 ab	152.1 ab	281.9 a	87.3
	<i>p</i>	***	†	***	***	ns
	<i>p</i>	ns	*	*	†	ns
Exp×D	<i>p</i>	ns	*	*	†	ns
Exp×H	<i>p</i>	**	*	ns	*	ns
H×D	<i>p</i>	**	ns	*	**	ns
Exp×H×D	<i>p</i>	ns	ns	ns	ns	ns

Dentro de cada columna, letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). El nivel de significancia de los tratamientos y las interacciones son indicadas con símbolos: †  $p < 0.1$ ; \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; ns: diferencias no significativas.

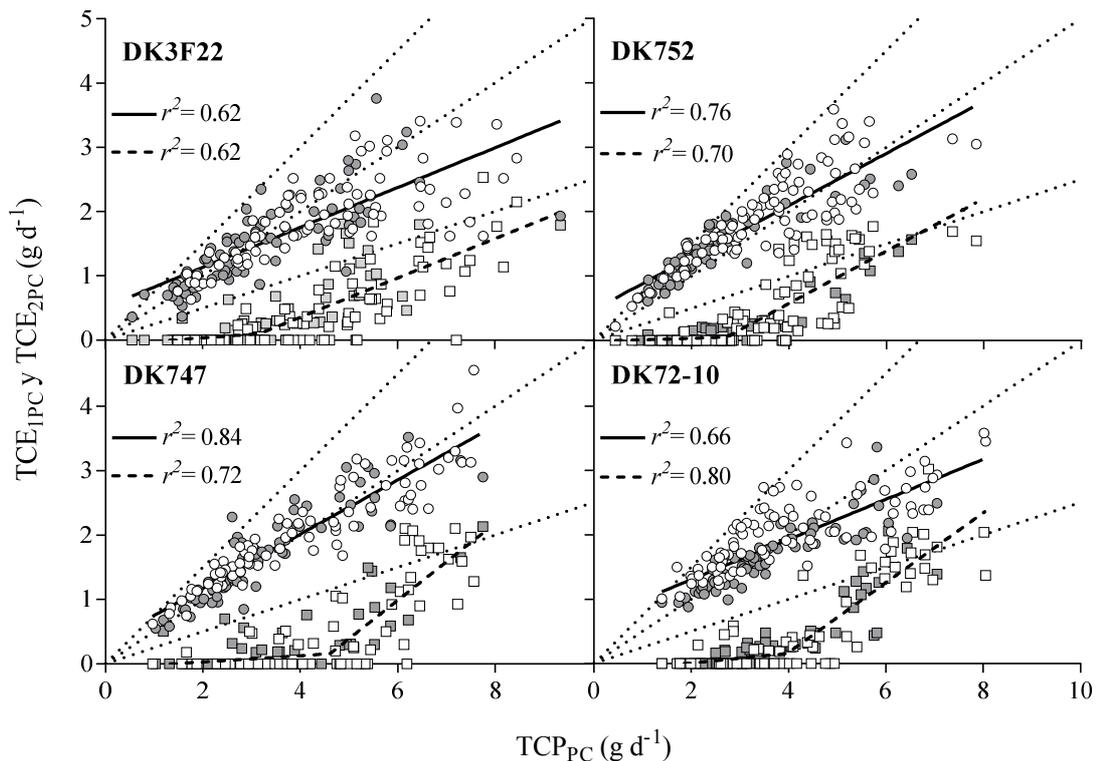
La más alta NGP TCP<sub>PC</sub><sup>-1</sup> fue registrada en la más baja densidad en el Exp<sub>1</sub> y en la densidad media en el Exp<sub>2</sub> ( $p < 0.01$  para la interacción Exp × densidad, Cuadro 2.4 y Cuadro Suplementario 6.2). La respuesta de la NGP TCP<sub>PC</sub><sup>-1</sup> a la densidad de plantas difirió entre híbridos ( $p < 0.05$  para la interacción híbrido × densidad, Cuadro 2.4 y Cuadro Suplementario 6.2). La NGP TCP<sub>PC</sub><sup>-1</sup> del híbrido más antiguo decreció con el incremento en las densidades. Por el contrario, NGP TCP<sub>PC</sub><sup>-1</sup> de DK752 exhibió una respuesta positiva al incremento en el número de plantas por unidad de área. Los híbridos más nuevos (DK747 y DK72-10) mostraron similar NGP TCP<sub>PC</sub><sup>-1</sup> en todas las densidades evaluadas. La NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> fue mayor ( $p < 0.001$ ) en el Exp<sub>2</sub> que en el Exp<sub>1</sub> (Cuadro 2.4). En el Exp<sub>1</sub> la NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> fue similar entre densidades e híbridos. Por el contrario, en el Exp<sub>2</sub> el menor valor para esta variable fue registrada en la densidad más baja ( $p < 0.1$  para la interacción Exp × densidad, Cuadro 2.4 y Cuadro Suplementario 6.2) y para el híbrido más antiguo ( $p < 0.05$  para la interacción Exp × híbrido, Cuadro 2.4 y Cuadro Suplementario 6.2). Para DK3F22 y DK72-10, la NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> no cambió con la densidad de plantas mientras que para los otros híbridos, se incrementó en respuesta a las mayores densidades ( $p < 0.01$  para la interacción híbrido × densidad, Cuadro 2.4 y Cuadro Suplementario 6.2).

**Cuadro 2.5.** Parámetros (valores y límites de confianza a  $p < 0.05$ ) de la función ajustada a las relaciones entre la tasa de crecimiento de espiga apical ( $TCE_{1PC}$ ) y sub-apical ( $TCE_{2PC}$ ) y la tasa de crecimiento de planta ( $TCP_{PC}$ ) durante el período crítico de cuatro híbridos de maíz cultivados a 3 densidades de plantas en dos experimentos a campo. Para cada función se detalla el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) y el número de plantas ( $n$ ).

		Parámetros				$r^2$ , $n$
	Híbridos	$a$	$b$			
$TCE_{1PC}$ vs $TCP_{PC}$ ( $p < 0.001$ )	DK3F22	$0.51 \pm 0.16$	$0.31 \pm 0.04$			0.62. 158
	DK752	$0.48 \pm 0.13$	$0.4 \pm 0.04$			0.76. 152
	DK747	$0.33 \pm 0.11$	$0.42 \pm 0.03$			0.84. 160
	DK72-10	$0.68 \pm 0.14$	$0.31 \pm 0.03$			0.66. 157
		Parámetros				$r^2$ , $n$
	Híbridos	$a$	$b$	$c$	$d$	
$TCE_{2PC}$ vs $TCP_{PC}$ ( $p < 0.001$ )	DK3F22	$-0.04 \pm 0.16$	$0.06 \pm 0.14$	$3.17 \pm 0.81$	$0.31 \pm 0.05$	0.62. 158
	DK752	$-0.01 \pm 0.13$	$0.02 \pm 0.13$	$2.71 \pm 0.43$	$0.41 \pm 0.06$	0.70. 152
	DK747	$-0.03 \pm 0.11$	$0.05 \pm 0.07$	$4.61 \pm 0.39$	$0.6 \pm 0.10$	0.72. 160
	DK72-10	$-0.07 \pm 0.13$	$0.08 \pm 0.09$	$3.97 \pm 0.38$	$0.54 \pm 0.07$	0.80. 157

Para  $TCE_{1PC}$  vs  $TCP_{PC}$ ,  $TCE_{1PC} = a + b TCP_{PC}$ .

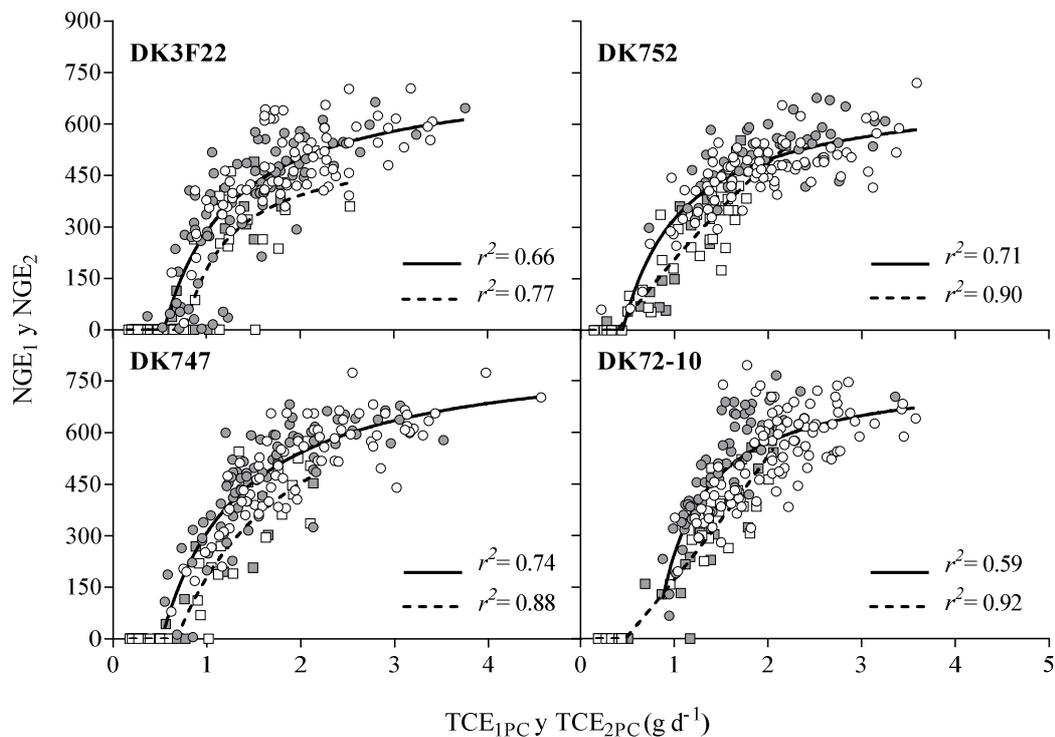
Para  $TCE_{2PC}$  vs  $TCP_{PC}$ ,  $TCE_{2PC} = a + b TCP_{PC}$  si  $TCP_{PC} < c$  y  $TCE_{2PC} = a + b c + d TCP_{PC}$  si  $TCP_{PC} > c$ .



**Figura 2.4.** Relación entre la tasa de crecimiento de la espiga apical ( $TCE_{1PC}$ ) y sub-apical ( $TCE_{2PC}$ ) con la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico ( $TCP_{PC}$ ) de cuatro híbridos de maíz cultivados en tres densidades de plantas en dos experimentos (símbolos blancos: datos de Exp<sub>1</sub>, símbolos grises: datos del Exp<sub>2</sub>). Cada símbolo identifica el crecimiento de la espiga apical (círculos) y sub-apical (cuadrados) de una planta. Las líneas representan la función lineal (línea continua) o bi-lineal (líneas discontinuas) ajustadas al conjunto de datos de la espiga apical y sub-apical de cada híbrido. Se detallan los coeficientes de determinación.

La  $NGE_2 TCE_{2PC}^{-1}$  no difirió entre Exps e híbridos (Cuadro 2.4). Para todos los híbridos la mayor ( $p < 0.001$ )  $NGE_2 TCE_{2PC}^{-1}$  se registró a la densidad más baja.

Los efectos de los tratamientos sobre  $TCP_{PC}$ ,  $TCE_{1PC}$   $TCP_{PC}^{-1}$  y  $TCE_{2PC}$   $TCP_{PC}^{-1}$  determinaron un amplio rango de  $TCE_{1PC}$  y  $TCE_{2PC}$ . La fijación de granos en cada espiga estuvo relacionada al crecimiento de estos órganos reproductivos y las funciones curvilineales ajustadas al conjunto de datos de cada espiga e híbrido describieron estas respuestas (Fig. 2.5 y Cuadro 2.3). A la densidad más baja, y para valores similares de  $TCE_{1PC}$  y  $TCE_{2PC}$ ,  $NGE_1$  fue levemente superior al  $NGE_2$ , mostrando similar eficiencia de fijación de granos en ambas estructuras (Cuadro Suplementario 6.2). Además, los híbridos difirieron ( $p < 0.001$ ) en la relación entre  $NGE_1$  y  $TCE_{1PC}$ , especialmente en el valor umbral de  $TCE_{1PC}$  por debajo del cual ocurre la esterilidad (Cuadro 2.3). Este umbral fue mayor que cero para todos los híbridos y DK72-10 exhibió el mayor valor. La función curvilineal ajustada para la relación entre  $NGE_2$  y  $TCE_{2PC}$  también difirió entre híbridos ( $p < 0.001$ ) mostrando un valor umbral de  $TCE_{2PC}$  por encima del cual las plantas fijan granos en la espiga sub-apical (Cuadro 2.3). Los valores umbrales de  $TCE_{2PC}$  de DK3F22 y DK747 fueron mayores ( $p < 0.05$ ) que aquellos alcanzados por DK752 y DK72-10.



**Figura 2.5.** Relación entre el número de granos de la espiga apical ( $NGE_1$ ) y sub-apical ( $NGE_2$ ) con la tasa de crecimiento de cada espiga durante el período crítico ( $TCE_{1PC}$ ,  $TCE_{2PC}$ ) de cuatro híbridos de maíz cultivados en tres densidades de plantas en dos experimentos (símbolos blancos: datos de Exp<sub>1</sub>, símbolos grises: datos del Exp<sub>2</sub>). Cada símbolo identifica  $NGE_1$  (círculos) y  $NGE_2$  (cuadrados) de una planta. Las líneas representan la función curvilineal ajustada a  $NGE_1$  vs  $TCP_{PC}$  de cada híbrido. Se detallan los coeficientes de determinación.

## 2.4. Discusión

La respuesta del RG en el cultivo de maíz a la densidad de plantas es usualmente disectada en dos componentes, RGP potencial y tolerancia al estrés por AD. Algunas investigaciones detectaron que cuando se comparan híbridos antiguos y modernos, el primer componente, RGP potencial, ha aumentado (Luque *et al.*, 2006; Ci *et al.*, 2011) o no se ha alterado en absoluto (Duvick y Cassman, 1999; Tollenaar y Wu, 1999; Sangoi *et al.*, 2002; Duvick *et al.*, 2004). Sin embargo, se acepta que una mayor tolerancia a la AD de los híbridos más nuevos permite utilizar densidades más altas en comparación con las utilizadas en híbridos más antiguos (Tollenaar *et al.*, 1992; Tollenaar y Wu, 1999; Duvick *et al.*, 2004; Lee y Tollenaar, 2007).

Una investigación reciente (Di Matteo *et al.*, 2016) evaluando híbridos liberados en los últimos 45 años por la empresa Dekalb-Monsanto, detectó que la  $D_{op}$  que maximiza el RG promedió las 12.3 pl m<sup>-2</sup> y no se observó una relación clara entre  $D_{op}$  y el año de liberación. Sin embargo, el RG potencial se incrementó a lo largo del período en estudio, así como también la tolerancia a la AD. En esta tesis, el mayor RGP fue obtenido por los híbridos más nuevos (DK747 y DK72-10). Sin embargo, no existieron interacciones significativas entre el híbrido y la densidad y/o el Exp, lo que indicaría que los híbridos más nuevos son más rendidores bajo cualquier combinación experimento  $\times$  densidad, no sólo debido a un incremento del RG bajo condiciones potenciales (*i.e.*, baja densidad) sino también por una mayor tolerancia a la AD (Di Matteo *et al.*, 2016).

El estudio del NG fijado en  $E_1$  y en  $E_2$  de híbridos de maíz antiguos y nuevos cultivados en densidades de plantas contrastantes fue llevado a cabo por varios autores (Tollenaar y Dwyer, 1992; Echarte *et al.*, 2000; Sangoi *et al.*, 2002; Echarte *et al.*, 2004). Sin embargo, hasta el momento de la realización de esta tesis, sólo se había abordado el estudio de los rasgos determinantes de  $NGE_1$  con técnicas no destructivas (Echarte *et al.*, 2004). En este capítulo, se utilizó el mismo modelo fisiológico con la intención de llevar a cabo un análisis retrospectivo de aquellos rasgos relacionados con  $NGE_1$  y  $NGE_2$  de cuatro híbridos de maíz liberados en diferentes décadas. El híbrido más nuevo (DK72-10, liberado en 2012), exhibió una respuesta lineal del NGP a la  $TCP_{PC}$  debido a su mayor valor de NGP tanto a bajas  $TCP_{PC}$  (*i.e.*, AD) como a altas  $TCP_{PC}$  (*i.e.*, baja densidad) (Cuadro Suplementario 6.2). Por el contrario, el híbrido más antiguo (DK3F22, liberado en 1983), mostró varias plantas estériles cuando  $TCP_{PC}$  fue menor a 4 g d<sup>-1</sup> y una respuesta curvilínea del NGP a la  $TCP_{PC}$ . Así, el mejoramiento habría operado simultáneamente y del mismo modo que lo hizo con el RGP, sobre el NGP potencial (*i.e.*, baja densidad) y su tolerancia al estrés por AD en contraste a los resultados reportados por Echarte *et al.* (2004) y Tollenaar y Lee (2002). Estas afirmaciones se evidencian no solo por el NGP más alto del híbrido más nuevo en densidades de plantas contrastantes, sino también por su gran plasticidad reproductiva. La respuesta lineal del NGP a la  $TCP_{PC}$  de este híbrido, no esperada en maíz, resultó similar a la de otras especies como soja (Vega *et al.*, 2001b), trigo y colza (Dreccer *et al.*, 2000) y sólo se documentó en algunos híbridos cuando se obtuvieron NGP y  $TCP_{PC}$  como la media de varias plantas dentro de una parcela (Kiniry *et al.*, 2002), pero nunca usando valores de plantas individuales.

Para estudiar los diferentes rasgos relacionados con la fijación de granos de los híbridos testeados, se identificaron los componentes numéricos del NGP:  $NGE_1$ , prolificidad y  $NGE_2$ . Las diferencias de NGP entre híbridos estuvieron principalmente asociadas con el  $NGE_1$ . El mayor  $NGE_1$  del híbrido más nuevo (DK72-10) fue registrado en todas las densidades (Cuadro Suplementario 6.1). Las diferencias de  $NGE_1$  entre híbridos podrían deberse a su diferente  $TCP_{PC}$  (Luque *et al.*, 2006), partición de

biomasa a la espiga apical ( $TCE_{1PC} TCP_{PC}^{-1}$ ) y/o a la eficiencia para la fijación de granos de este órgano ( $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$ ) (Echarte *et al.*, 2004). De acuerdo con investigaciones previas (Tollenaar *et al.*, 1992; Andrade *et al.*, 1999a; Maddonni y Otegui, 2004) los híbridos evaluados mostraron diferencias leves en  $TCP_{PC}$  y similar respuesta de este rasgo a la densidad de plantas (*i.e.*, no fue detectada interacción híbrido  $\times$  densidad significativa para  $TCP_{PC}$ ). Por lo tanto, el mayor  $NGE_1$  de los híbridos más nuevos no estuvo relacionado a una mayor  $TCP_{PC}$ . Probablemente, los híbridos evaluados tienen una arquitectura de planta similar (*i.e.*, ideotipo), que ha atraído la atención de los mejoradores para optimizar la captura de luz y el crecimiento de las plantas bajo condiciones de cultivo (Lee y Tollenaar, 2007; Ku *et al.*, 2010). La descripción arquitectural de los distintos híbridos evaluados en este capítulo y su respuesta a la densidad se presenta en el capítulo siguiente.

Basados en el modelo propuesto por Vega *et al.* (2001a) de partición entre estructuras vegetativas y reproductivas, se analizó la partición de biomasa a las espigas alrededor de  $R_1$ , pero se identificó por separado el crecimiento de la espiga apical y el de la espiga sub-apical. Todos los híbridos presentaron una respuesta lineal de la  $TCE_{1PC}$  a la  $TCP_{PC}$  que difería del modelo curvilíneo propuesto por Vega *et al.* (2001a). Por lo tanto, para el amplio rango de  $TCP_{PC}$  explorado, la  $TCE_{1PC}$  estuvo limitada por fuente. La comparación de  $TCE_{1PC}$  vs  $TCP_{PC}^{-1}$  entre los híbridos evaluados reveló que DK752 (liberado en 1993) tuvo la mayor  $TCE_{1PC} TCP_{PC}^{-1}$  (*ca.* 0.56) mientras que el híbrido más antiguo (DK3F22) presentó el valor más bajo (*ca.* 0.44). Por lo tanto, para los híbridos evaluados, los cambios de  $NGE_1$  no estuvieron asociados a una partición de biomasa diferente a la espiga apical, sino que estuvieron principalmente relacionados con cambios en la eficiencia reproductiva a nivel de dicha espiga ( $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$ ). Estos resultados difieren de los reportados previamente para un período de mejoramiento anterior (1965-1993) en Argentina donde el  $NGE_1$  más alto de los híbridos más nuevos se atribuyó a su mayor  $TCE_{1PC} TCP_{PC}^{-1}$  (*ca.* 0.15 a 0.20) (Echarte *et al.*, 2004).

Similarmente a lo descripto para  $NGE_1$ , las diferencias en  $NGE_2$  entre híbridos podrían atribuirse a  $TCE_{2PC} TCP_{PC}^{-1}$  y / o  $NGE_2 TCE_{2PC}^{-1}$ . El modelo bi-lineal ajustado a la relación entre  $TCE_{2PC}$  y  $TCP_{PC}$  permitió la detección de valores de  $TCP_{PCU}$  (3.1-4.6 g d<sup>-1</sup>) por encima de los cuales las plantas de todos los híbridos aumentaron la partición de biomasa a la espiga sub-apical. Esta respuesta nunca fue documentada y los valores estimados de  $TCP_{PCU}$  no se relacionaron con una limitación morfogénica para el crecimiento de la espiga apical; ya que la respuesta de saturación de la  $TCE_{1PC}$  a la  $TCP_{PC}$  informada por Andrade *et al.* (1999a) no fue registrada en el conjunto de datos obtenidos en los experimentos de este capítulo. Las plantas con  $TCP_{PC} > 3.1-4.6$  g d<sup>-1</sup> (*i.e.*, en densidades bajas), exhibieron una respuesta positiva de la  $TCE_{1PC}$  a la  $TCP_{PC}$  (Fig. 2.4) pero no respondieron estableciendo más granos en la espiga apical (Fig. 2.3) reflejándose en una caída de la eficiencia reproductiva de la  $E_1$ . Para estas plantas, con alto suministro de carbono alrededor de  $R_1$ , el número de flores de la espiga apical sería el factor limitante del  $NGE_1$  (*i.e.*, una limitación por destino) (Otegui, 1997), un mecanismo que fue confirmado por Sarquís *et al.* (1998) con la adición de un suministro externo de carbohidratos a plantas aisladas de maíz. Sin embargo, se pudieron obtener más granos por planta (*i.e.*, mayor NGP) debido a la aparición de espigas sub-apicales fértiles (Sarquís *et al.*, 1998). Para  $TCP_{PC} < 3.1-4.6$  g d<sup>-1</sup>, *i.e.*, en AD, el crecimiento de las espigas sub-apicales fue drásticamente limitado por fuente, y las plantas del híbrido más nuevo en su mayoría fijaron granos en la espiga sub-apical cuando  $TCP_{PC} > 6$  g d<sup>-1</sup>, como fue reportado para híbridos antiguos en Canadá (Tollenaar *et al.*, 1992) y en Argentina (Andrade *et al.*, 1999b). Además, el híbrido más antiguo fijó granos en la

espiga sub-apical a menores  $TCP_{PC}$  que el híbrido más nuevo. Estos patrones determinaron que, las plantas de todos los híbridos evaluados para un amplio rango de  $TCP_{PC}$  ( $1-4/6 \text{ g d}^{-1}$ ), modifiquen principalmente el NGP mediante la fijación de granos en la espiga apical, pero a la densidad más baja algunas plantas superaron  $TCP_{PC} > 4-6 \text{ g d}^{-1}$  y fijaron granos también en la espiga sub-apical.

Por lo tanto, los hallazgos de este capítulo permitieron determinar que las estrategias para determinar el RGP potencial y su tolerancia a la AD podrían ser diferentes según el tipo de híbrido que un mejorador desee generar. Así, siguiendo la estrategia que generó el mayor RGP en el híbrido más nuevo (DK72-10), un mayor RGP potencial y una mayor tolerancia a AD podrían ser alcanzados incrementando la  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$ . Por el contrario en baja densidad, el RGP podría incrementarse a través de una mayor contribución del  $NGE_2$  al NGP a través de una mayor  $NGE_2 TCE_{2PC}^{-1}$  o  $TCE_{2PC} TCP_{PC}^{-1}$ . Particularmente para el último rasgo, se registró variabilidad genotípica principalmente en el  $Exp_1$ , por lo cual se podría especular que los mejoradores podrían considerar los parámetros de la función bi-lineal ajustada para  $TCE_{2PC} TCP_{PC}^{-1}$  (Fig. 2.4 y Fig. 2.5) para incrementar el NGP. Un menor  $TCP_{PCU}$  ( $3.1 \text{ g d}^{-1}$  vs  $4.6 \text{ g d}^{-1}$ ) impactaría sobre el NGP por una mayor  $TCE_{2PC}$ , por lo tanto, más plantas del cultivo exhibirían espigas sub-apicales fértiles (*i.e.*, mayor prolificidad). Por el otro lado, una segunda pendiente mayor para la relación entre  $TCE_{2PC}$  y  $TCP_{PC}$  ( $0.60$  vs  $0.31$ ) determinaría similar prolificidad pero un mayor  $NGE_2$ . Adicionalmente, hasta el alcance de nuestros conocimientos, no existe información acerca de la compensación entre rasgos relacionados a la partición de biomasa a diferentes estructuras reproductivas y la eficiencia reproductiva de estos órganos lo cual proveería información de gran utilidad para conocer si los rasgos podrían mejorarse simultáneamente. En este trabajo se analizaron estas relaciones para el conjunto de datos bajo estudio. Este análisis reveló compensaciones débiles entre los rasgos relacionados a la espiga apical ( $r = 0.18$ , entre  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$  y  $TCE_{1PC} TCP_{PC}^{-1}$ ) y entre ciertos rasgos de la espiga apical y sub-apical ( $r = -0.56$ , entre  $TCE_{1PC} TCP_{PC}^{-1}$  y  $TCE_{2PC} TCP_{PC}^{-1}$  y  $r = -0.26$ ,  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$   $NGE_2 TCE_{2PC}^{-1}$ ) lo que indicaría que el mejoramiento simultáneo de estos rasgos sería posible. En contraste con las relaciones previamente mencionadas, se estimaron correlaciones positivas entre  $NGE_2 TCE_{2PC}^{-1}$  y  $TCE_{2PC} TCP_{PC}^{-1}$  ( $r = 0.81$ ), prolificidad y  $TCE_{2PC} TCP_{PC}^{-1}$  ( $r = 0.94$ ) y prolificidad y  $NGE_2 TCE_{2PC}^{-1}$  ( $r = 0.75$ ). Estas correlaciones fenotípicas sugieren que si el objetivo es seguir aumentando los rasgos asociados a la fijación de granos en la espiga apical se podrá mejorar  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$  o  $TCE_{1PC} TCP_{PC}^{-1}$  sin generar compensaciones que depriman el NGP. En cambio, si el objetivo es incrementar el RGP a través del aporte del  $NGE_2$ , la selección de cultivares basados en la prolificidad (un rasgo fácil de seleccionar) arrastraría también mayores  $NGE_2 TCE_{2PC}^{-1}$  y  $TCE_{2PC} TCP_{PC}^{-1}$ , ambas variables con impacto positivo sobre el  $NGE_2$  y el NGP, confiriendo una mayor estabilidad bajo condiciones de crecimiento contrastantes (Adriaanse y Human, 1992; Sarquís *et al.*, 1998; Varga *et al.*, 2004) y no afectando aquellos rasgos asociados al  $NGE_1$ .

## 2.5. Conclusiones

En este capítulo se estudió el RGP y sus componentes numéricos en cuatro híbridos de maíz argentinos liberados durante las últimas décadas con especial énfasis en los rasgos fisiológicos determinantes del  $NGE_1$  y  $NGE_2$ . Para el conjunto de híbridos evaluados, el mejoramiento incrementó no sólo el RGP potencial sino también la tolerancia al estrés por AD, ya que el RGP del híbrido más nuevo resultó superior bajo cualquier condición de competencia intra-específica. Adicionalmente, esta superioridad del RGP fue generada por su elevado NGP y su estable PG. Dentro del amplio rango de

TCP<sub>PC</sub> (1-10 g d<sup>-1</sup>) promovido por las diferentes densidades y condiciones de crecimiento, tanto TCE<sub>1PC</sub> como TCE<sub>2PC</sub> resultaron limitadas por fuente, pero una mayor proporción de la TCP<sub>PC</sub> se particionó a la espiga apical (ca. 0.39-0.57 y 0-0.26 para TCE<sub>1PC</sub> TCP<sub>PC</sub><sup>-1</sup> y TCE<sub>2PC</sub> TCP<sub>PC</sub><sup>-1</sup>; respectivamente). Más aun, la menor fuerza como destino de la E<sub>2</sub> se puso de manifiesto para TCP<sub>PC</sub> < 3.1-4.6 g d<sup>-1</sup> donde la TCE<sub>2PC</sub> resultó prácticamente suprimida. A baja densidad, la NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> fue levemente mayor que la NGE<sub>2</sub> TCE<sub>2PC</sub><sup>-1</sup>, por lo tanto para una misma planta, NGE<sub>1</sub> resultó superior a NGE<sub>2</sub>. Sin embargo, en densidad media y AD, la reducida TCE<sub>2PC</sub> TCP<sub>PC</sub><sup>-1</sup> y la baja NGE<sub>2</sub> TCE<sub>2PC</sub><sup>-1</sup> determinaron una reducción drástica del NGE<sub>2</sub>. Las diferencias entre los híbridos y densidades evaluadas para NGE<sub>1</sub> estuvieron principalmente determinadas por TCP<sub>PC</sub> y NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> (que para AD resultó similar a NGP TCP<sub>PC</sub><sup>-1</sup> por la ausencia de granos en E<sub>2</sub>). Por el contrario, los híbridos tuvieron un similar NGE<sub>2</sub> debido a su similar TCE<sub>2PC</sub> TCP<sub>PC</sub><sup>-1</sup> y NGE<sub>2</sub> TCE<sub>2PC</sub><sup>-1</sup>. Estos resultados sugieren que el efecto del mejoramiento sobre el RGP, a través del NGP estuvo principalmente determinado por NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> que para el híbrido más nuevo no interaccionó con la densidad. Por lo tanto, el híbrido más nuevo alcanzó el mayor NGP a baja, media y AD de planta, lo cual refuta parcialmente la hipótesis de este capítulo (*Los híbridos modernos, ante incrementos en la densidad de plantas, presentan una menor reducción en TCP<sub>PC</sub> y una mayor NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> que los híbridos antiguos, lo que genera, junto a un sostenido PG, un mayor rendimiento de granos por planta*) debido a que el mecanismo por el cual logra sostener un mayor NGP no está relacionado con una estabilidad diferencial de la TCP<sub>PC</sub> ante cambios en la densidad, sino con su mayor NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup>.

En el siguiente Capítulo se analiza el impacto del híbrido y la densidad de plantas sobre los rasgos que determinan la arquitectura de las plantas y las posibles asociaciones directas e indirectas, entre dichos rasgos con la TCP<sub>PC</sub> y el NGE<sub>1</sub> TCP<sub>PC</sub><sup>-1</sup>.

**Arquitectura, crecimiento y eficiencia reproductiva de las plantas de híbridos de maíz liberados en diferentes épocas del mejoramiento**

### 3.1. Introducción

En el Capítulo anterior se resaltó la implicancia del mejoramiento sobre el NGP y su estabilidad como atributos que confieren un RGP mayor en los híbridos modernos. El NGP es un rasgo cuantitativo controlado por un gran número de genes, y es altamente influenciado por el ambiente a través de la  $TCP_{PC}$  y la  $NGP\ TCP_{PC}^{-1}$  (incluyendo en esta variable la partición de carbono a la espiga y la eficiencia reproductiva de este órgano), como lo demuestran numerosos trabajos mencionados en los Capítulos previos y los resultados del Capítulo 2.

El incremento en la densidad de plantas tiene un impacto negativo sobre la  $TCP_{PC}$  que se refleja en un menor NGP (v.g., datos del capítulo anterior), pero positivo sobre la TC del cultivo (TCC) y el NG por unidad de área (Andrade *et al.*, 1993; Westgate *et al.*, 1997; Andrade *et al.*, 1999b; Andrade *et al.*, 2000; Maddonni *et al.*, 2001b; Maddonni y Otegui, 2004). En general, mayores densidades logran mayor cobertura alrededor de floración (*i.e.*, mayor eficiencia de interceptación; EIR), sin modificar la eficiencia con la cual la radiación fotosintéticamente activa (RFA) interceptada es transformada en biomasa, *i.e.*, EUR. Sin embargo, algunos rasgos de planta como el AV pueden modificar la TCC a través de cambios en la EUR por una distinta distribución de la radiación entre los estratos foliares del canopeo (Duncan, 1971). Simulando canopeos con plantas erectófilas (AV promedio de  $80^\circ$ , ángulo medido desde el plano horizontal hasta la lámina de las hojas) Hammer *et al.* (2009) encontraron que la TCC se incrementaría aún para IAF superiores al crítico (*ca.* 4-5) que maximiza la RFA interceptada (Maddonni y Otegui, 1996). Similarmente, híbridos chinos modernos que presentaban esta característica tuvieron una mayor fotosíntesis en las hojas cercanas a la espiga, indicando un cambio en el patrón de penetración de la radiación (Zhao *et al.*, 2015). Este mecanismo podría incrementar la provisión de carbohidratos a la espiga, contribuyendo potencialmente a reducir la presencia de plantas estériles (Hammer *et al.*, 2009) al sostener o incrementar la  $NGE_1\ TCE_{1PC}$ .

Sin embargo, para un mismo AV, a nivel de cultivo, la EUR puede decrecer rápidamente a medida que las hojas superiores presentan poca longitud al punto en donde se curvan hacia abajo, *i.e.*, LQH (Duncan, 1971), lo que genera un mayor sombreado de las hojas inferiores. En consecuencia, el LQH junto con el AV, pueden resultar de importancia en canopeos con  $IAF \geq 5$  de AD (Winter y Ohlrogge, 1973). Así, genotipos con mayores VOH, parámetro que contempla a AV y LQH, generaron mayores RG en cultivos con elevado IAF (Pepper *et al.*, 1977). Similarmente, los híbridos con mayor RG analizados por Ma *et al.* (2014), presentaron un VOH mayor en los estratos foliares alrededor de la espiga (hoja de la espiga + hojas adyacentes) y estrato superior (3 hojas superiores), y una mayor penetración de radiación, *i.e.*, menor coeficiente de extinción lumínica, hacia estratos profundos del canopeo.

La orientación de las hojas en el plano horizontal o azimut foliar (Girardin y Tollenaar, 1994), también puede impactar sobre la penetración de luz en el canopeo. Así, Maddonni *et al.* (2001b) detectaron variaciones genotípicas en este rasgo, y mediante modelos de simulación arquitecturales, Maddonni *et al.* (2001a) demostraron que en canopeos completamente desarrollados (*i.e.*, durante el periodo crítico), cultivos densos sembrados en hileras con hojas preferentemente perpendiculares a la misma presentarían mayor cantidad de RFA que llega a los estratos foliares inferiores sin perder la capacidad de maximizar la interceptación de RFA a nivel de cultivo.

Por lo mencionado en los párrafos anteriores, el impacto de la distribución espacial del AF de las plantas sobre la captura y penetración de radiación resultan rasgos de interés en AD. Adicionalmente, la arquitectura del tallo, también puede ser considerado como rasgo de interés en AD, debido a la gran sensibilidad del DT y el largo de los

entrenados al incremento poblacional (Tetio-Kagho y Gardner, 1988; Lashkari *et al.*, 2011) y su impacto sobre la propensión al vuelco (Sangoi *et al.*, 2002) que reduce el RG cosechado. La arquitectura del tallo puede ser descripta a través del DT, la AP, la AE y la relación AE/AP. Genotipos con mayores DT así como con menor AE/AP están asociados con una menor propensión al vuelco (Beavis *et al.*, 1991; Koester *et al.*, 1993; Berke y Rocheford, 1995; Austin *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2007; Peiffer *et al.*, 2014; Ku *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016).

Numerosos trabajos relacionaron algunos rasgos de la arquitectura de la planta con el RGP y/o sus componentes numéricos (Lambert y Johnson, 1978; Ci *et al.*, 2012; Lambert *et al.*, 2014; Ma *et al.*, 2014; Mansfield y Mumm, 2014; Chen *et al.*, 2017). Sin embargo, ninguno de ellos identificó si el impacto positivo de la arquitectura de la planta sobre el NGP se originó principalmente por una mayor  $TCP_{PC}$  o una mayor  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$ . Adicionalmente, los trabajos mencionados sólo evaluaron las correlaciones simples entre rasgos, sin descomponer las mismas en sus efectos directos o indirectos sobre el RGP, lo que permitiría conocer si el mejoramiento de los mismos puede desarrollarse de manera independiente del valor de otro rasgo. Este capítulo pone a prueba la segunda hipótesis de esta tesis sobre la que se formularon inicialmente el segundo y tercer objetivo específico.

### *Hipótesis*

Los híbridos modernos, presentan una estructura de planta más compacta que aumenta la intercepción de luz a la altura de la espiga con un consecuente aumento de  $TCP_{PC}$  y  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$  bajo condiciones de canopeos densos (*i.e.*, altas densidades).

### *Objetivos específicos*

Los objetivos específicos de este capítulo fueron inicialmente 2, sin embargo, se incorporó un tercer objetivo que surgió al buscar la metodología estadística apropiada para interpretar los resultados del objetivo ii.

- i) Describir la arquitectura de la planta y su respuesta al incremento en la densidad de plantas de cuatro híbridos argentinos de maíz liberados en diferentes décadas.
- ii) Correlacionar dichos rasgos con la  $TCP_{PC}$  y la  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$ .
- iii) Particionar las correlaciones a través de análisis de sendero para conocer si los rasgos arquitecturales estudiados se asocian a través de sus efectos directos o indirectos con la  $TCP_{PC}$  y  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$ .

## **3.2. Materiales y métodos**

### **3.2.1. Manejo del cultivo y diseño experimental**

Los experimentos utilizados en este estudio fueron descriptos en el Capítulo 2.

### **3.2.2. Mediciones**

#### **3.2.2.1. Arquitectura de las plantas y penetración de la radiación**

Sobre las plantas marcadas en cada sub-parcela, se registró en  $R_1$  todos los caracteres morfológicos descriptos a continuación.

*Altura de la planta (AP) y de la espiga (AE)*, a través de la distancia desde la superficie del suelo hasta el nudo que porta la hoja bandera y hasta el nudo que soporta la espiga, respectivamente. Con el cociente de ambas mediciones se estimó la relación AE/AP.

*Diámetro de la base de los tallos (DT)*, se midió con calibre a la altura del entrenudo basal, realizando y promediando dos mediciones (diámetro máximo y mínimo) por planta que permitieron capturar la forma oval de la sección del tallo.

*Número de hojas verdes totales (HV<sub>tot</sub>)*, considerando las hojas como verdes, cuando menos de la mitad de la superficie de las mismas presentaba un color amarillento (Maddonni y Otegui, 1996). El HV<sub>tot</sub> se dividió en hojas verdes superiores (HV<sub>s</sub>, desde la hoja de la espiga inclusive hasta la hoja bandera) e inferiores (HV<sub>i</sub>, por debajo de la hoja de la espiga).

*Dimensiones de las hojas verdes*, se midió el ancho máximo (AH) y el LMH y el AF foliar individual fue computada como  $AH \times LMH \times 0.75$  (Montgomery, 1911). El AF<sub>pl</sub> fue obtenido a través de la sumatoria de todas las hojas verdes medidas sobre cada planta.

*Valor medio de orientación de las hojas (VOH)*, se midió el LQH. De este modo, las mediciones de LMH, LQH y del ángulo de inserción foliar de las hojas (medido como el ángulo de cada hoja respecto al plano horizontal; AV), permitieron estimar el valor de VOH a través de la ecuación que se detalla a continuación (Pepper *et al.*, 1977):

$$VOH = 1/n \sum AV(LQH/LMH)$$

*Orientación de las hojas en el plano horizontal*, sobre el HV<sub>tot</sub> se calculó la proporción de hojas verdes perpendiculares (PHV<sub>perp</sub>) y paralelas a la hilera (PHV<sub>paral</sub>) de siembra según la metodología propuesta por Girardin y Tollenaar (1994). Para ello, se utilizó un transportador plástico dividido en 16 sectores (22°30' por sector) colocado debajo de cada hoja a lo largo del tallo con la línea 0° a los 180° en dirección a la hilera. Para cada hoja se registró el sector donde se proyectaba el sector medio de la nervadura central. La punta de la hoja no fue tenida en cuenta debido a que puede existir torsión y/o desplazamiento de la parte distal de la lámina foliar. Una hoja fue considerada perpendicular cuando su clase azimutal estuvo comprendida dentro de los intervalos 67°30'-112°30' o 247°30'-292°30' mientras que fue considerada paralela cuando su clase azimutal pertenecía a los intervalos 337°30'-22°30' o 157°30'-202°30' como lo propuso Maddonni *et al.* (2001b). La proporción de hojas para cada condición de cultivo se calculó como la relación entre el número de hojas verdes perpendiculares o paralelas a la hilera y el HV<sub>tot</sub>.

*Penetración de la radiación solar (RFA<sub>v</sub>/RFA<sub>i</sub>)*, fue calculada a partir de las mediciones de RFA registradas por encima del canopeo (RFA<sub>v</sub>) y la transmitida (RFA<sub>t</sub>) en tres estratos del canopeo (superior, medio e inferior) mediante el uso de un radiómetro de barra de 1 m (Cava Devices). El estrato superior abarcó las tres hojas superiores, el medio desde la cuarta hoja superior hasta la hoja de la espiga inclusive y el inferior las hojas verdes ubicadas por debajo de la hoja de la espiga. Las observaciones en cada sub-parcela fueron registradas alrededor de R<sub>1</sub>, al mediodía entre las 11.30 a 14.30 h, ubicando la barra del sensor por debajo de cada uno de los estratos.

### **3.2.2.2. Crecimiento de las plantas durante el período crítico y eficiencia en la fijación de granos en la espiga apical.**

Las estimaciones de la TCP<sub>PC</sub> y NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> fueron detalladas en el Capítulo 2.

### **3.2.3. Análisis de datos**

Para cada Exp se realizó un análisis de la varianza con la finalidad de determinar la significancia de los efectos principales (híbrido y densidad de plantas) y su interacción (híbrido × densidad), según un diseño de parcelas divididas. Para establecer la existencia de diferencias significativas entre valores medios se utilizó la prueba DMS de

Fisher. Las funciones lineales ajustadas a las relaciones entre rasgos se realizaron con GradPad Prism (GraphPad Prism version 6.00 para Windows), y la diferencia entre las pendientes y las ordenadas al origen de las rectas fueron testeada con un  $\alpha = 0.05$ .

El estudio de las correlaciones tiene una gran importancia en programas de mejoramiento principalmente cuando la selección de un carácter deseable presenta dificultades por tratarse de un rasgo de baja heredabilidad o porque resulta difícil de fenotipificar. En este Capítulo se utilizaron las correlaciones de Pearson para evaluar las asociaciones entre rasgos. Las correlaciones simples nos permiten conocer la magnitud y el sentido de la asociación entre dos rasgos, pero no proveen información respecto al efecto directo e indirecto de un grupo de caracteres sobre un rasgo considerado como principal o sea una asociación causal. Es por ello que se utilizaron análisis de senderos o de ecuaciones estructurales, con el objetivo de construir modelos de causa-efecto entre las variables a través de la partición de la correlación entre dos rasgos como la suma de dos tipos de efectos. Estos son efectos directos de una variable sobre otra (senderos simples) o indirectos de una variable sobre otra vía, una o más variables exógenas (senderos compuestos). Se realizó un análisis de sendero para cada combinación  $\text{Exp} \times \text{D}$  con el objetivo de conocer los efectos directos e indirectos que produce el  $\text{AF}_{\text{pl}}$  así como el tamaño y la arquitectura del AF en los diferentes estratos, sobre  $\text{TCP}_{\text{PC}}$  y  $\text{NGE}_1 \text{TCE}_{1\text{PC}}^{-1}$ . Los diagramas de la sección siguiente, corresponden a la descomposición del conjunto de correlaciones que fueron significativas en la determinación de los rasgos antes mencionados en cada combinación  $\text{Exp} \times \text{D}$ . En cada figura, los efectos directos pueden leerse sobre las flechas simples desde una variable exógena a la variable respuesta mientras que los efectos indirectos se determinan multiplicando los valores de correlación entre dos rasgos (flechas dobles) por el coeficiente de sendero (flechas simples). Los análisis de correlación y sendero se llevaron a cabo utilizando el paquete estadístico InfoStat v2016 (Di Rienzo *et al.*, 2016).

### 3.3. Resultados

#### 3.3.1. Caracterización morfológica

##### 3.3.1.1. Arquitectura de la planta, diferencias genotípicas y respuesta a la densidad de plantas

La mayoría de los rasgos arquitecturales de planta analizados en ambos Exps presentaron diferencias genotípicas ( $p < 0.05$ - $0.001$ ) y sensibilidad ( $p < 0.1$ - $0.001$ ) a los cambios en la densidad de plantas (Cuadro 3.1).

En ambos Exps los híbridos más nuevos (DK747 y DK72-10) presentaron una AE intermedia, entre DK752 y DK3F22 que tuvieron la menor y mayor AE respectivamente y una AP similar a la del DK3F22 (Cuadro 3.1). Adicionalmente, sólo la AE/AP presentó una interacción híbrido  $\times$  densidad significativa ( $p < 0.05$ ) en el  $\text{Exp}_2$ . A pesar de ello, los dos híbridos más nuevos (DK747 y DK72-10) presentaron en todas las densidades la menor AE/AP. Adicionalmente, el híbrido más nuevo (DK72-10) presentó el mayor DT y mantuvo una elevada  $\text{AF}_{\text{pl}}$  similar a DK3F22, pero con una diferente distribución del  $\text{HV}_s$ . En el  $\text{Exp}_2$ , los híbridos más nuevos mostraron además un menor número de  $\text{PHV}_{\text{paral}}$  ( $p < 0.01$ ).

En ambos Exps, ante el incremento en la densidad, las plantas presentaron una mayor AE/AP, menor DT y menor  $\text{AF}_{\text{pl}}$  mientras que  $\text{HV}_{\text{tot}}$  y  $\text{HV}_i$  alcanzaron su mayor valor en D8. Particularmente en el  $\text{Exp}_1$ , la AE en D8 y D12 resultó mayor que en D4, la AP sólo se incrementó en D8 y los cultivos en D8 y D12 presentaron en promedio un 33% menos de  $\text{PHV}_{\text{paral}}$  que en D4 (Cuadro 3.1). En el  $\text{Exp}_2$  los efectos de la densidad fueron mayores que en el  $\text{Exp}_1$  y generaron una disminución en los valores de  $\text{HV}_{\text{tot}}$ ,  $\text{HV}_i$  y  $\text{HV}_s$ .

**Cuadro 3.1.** Relación entre la altura a la inserción de la espiga (AE) y la altura total de la planta (AP) (AE/AP), AE, AP, diámetro de la base del tallo (DT), área foliar por planta (AF<sub>pl</sub>), número de hojas verdes totales (HV<sub>tot</sub>), por debajo de la espiga (HV<sub>i</sub>) y por encima de la espiga (HV<sub>s</sub>), proporción de hojas verdes perpendiculares (PHV<sub>perp</sub>) y paralelas a la hilera (PHV<sub>paral</sub>) de cuatro híbridos de maíz (H) cultivados a tres densidades de plantas (D) [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas m<sup>-2</sup>] en dos experimentos a campo (Exp).

Exp <sub>1</sub>		AE/AP	AE (cm)	AP (cm)	DT (mm)	AF <sub>pl</sub> (cm <sup>2</sup> pl <sup>-1</sup> )	HV <sub>tot</sub>	HV <sub>i</sub>	HV <sub>s</sub>	PHV <sub>perp</sub>	PHV <sub>paral</sub>
Híbrido	DK3F22	0.61a	114.0a	187.4a	21.9a	5647.4a	13.1a	7.27a	5.79b	0.35	0.22
	DK752	0.56b	84.4c	149.9b	20.3b	4536.8c	11.4b	5.66c	5.75b	0.35	0.22
	DK747	0.53c	99.7b	189.2a	20.8b	5151.7b	12.6a	6.05bc	6.52a	0.32	0.21
	DK72-10	0.56b	102.0b	181.9a	21.1ab	5409.9ab	12.6a	6.30b	6.32a	0.37	0.22
Densidad	D4	0.55b	94.4b	172.0b	25.0a	5845.4a	12.3ab	6.20b	6.13	0.31	0.28a
	D8	0.56b	103.1a	184.2a	20.5b	5252.5b	12.8a	6.58a	6.18	0.34	0.18b
	D12	0.59a	102.5a	175.0b	17.6c	4461.4c	12.2b	6.19b	5.97	0.38	0.19b
H	<i>p</i>	***	***	***	*	***	***	***	***	ns	ns
D	<i>p</i>	*	*	**	***	***	*	†	ns	ns	†
H × D	<i>p</i>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Exp <sub>2</sub>		AE/AP	AE (cm)	AP (cm)	D (mm)	AF <sub>pl</sub> (cm <sup>2</sup> pl <sup>-1</sup> )	HV <sub>tot</sub>	HV <sub>i</sub>	HV <sub>s</sub>	PHV <sub>perp</sub>	PHV <sub>paral</sub>
Híbrido	DK3F22	0.59a	107.5a	182.5a	24.1	6326.7a	13.1a	6.56a	6.54b	0.36	0.20ab
	DK752	0.52b	78.2c	148.0b	23.1	5278.0c	11.1c	4.79c	6.34b	0.28	0.27a
	DK747	0.49c	85.4bc	173.8a	22.9	5336.3c	12.3b	5.32b	7.00a	0.33	0.15b
	DK72-10	0.49c	89.3b	176.5a	23.6	5832.3b	12.2b	5.33b	6.88a	0.40	0.12b
Dens	D4	0.50c	88.8	172.2	27.8a	6752.2a	13.2a	6.40a	6.81a	0.33	0.20
	D8	0.52b	89.9	170.8	22.9b	5571.9b	12.1b	5.42b	6.69ab	0.32	0.21
	D12	0.55a	91.6	167.6	19.6c	4755.9c	11.2c	4.68c	6.57b	0.37	0.14
H	<i>p</i>	***	***	***	ns	***	***	***	***	ns	**
D	<i>p</i>	***	ns	ns	***	***	***	***	†	ns	ns
H × D	<i>p</i>	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Dentro de cada columna, letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). El nivel de significancia de los tratamientos y las interacciones son indicadas con símbolos: †  $p < 0.1$ ; \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; ns: diferencias no significativas.

### 3.3.1.2. Área foliar por estrato y su distribución espacial, efectos genotípicos y de la densidad de plantas

En la mayoría de las combinaciones estrato  $\times$  Exp, el AF, sus componentes y los rasgos asociados a la distribución espacial del AF presentaron diferencias genotípicas ( $p < 0.1-0.001$ ) y sensibilidad ( $p < 0.05-0.001$ ) a los cambios en la densidad de plantas (Cuadro 3.2, 3.3 y 3.4). El híbrido más nuevo (DK72-10) y el más antiguo (DK3F22) presentaron los mayores valores de AF en el estrato medio e inferior debido principalmente a hojas de mayor AH (estrato medio) o LMH (estrato inferior) en contraposición a la menor AF de las hojas del estrato superior. El híbrido más nuevo (DK72-10) presentó un canopeo más compacto en los tres estratos evaluados (*i.e.*, altos valores de VOH y sus componentes) que no se tradujo en cambios sustanciales en la  $RFA_t/RFA_i$  en comparación con la de los restantes híbridos. Ante incrementos de la densidad de plantas y tomando como referencia D4, la  $RFA_t/RFA_i$  disminuyó mayormente en el estrato medio e inferior (*ca.* 300%; Cuadro 3.3 y 3.4. respectivamente *vs ca.* 76% para el superior; Cuadro 3.2).

El incremento en la densidad de plantas disminuyó el AF de los tres estratos en mayor magnitud en los cultivos del Exp<sub>1</sub> (Cuadro 3.2, 3.3 y 3.4). La mayor caída del AF se registró en el estrato superior seguido por el medio y el inferior siendo el componente más sensible el AH, que disminuyó *ca.* 35%, 24% y 15% para los mencionados estratos. Contrariamente a la disminución que presentó el LMH del estrato superior y medio ante incrementos de la densidad, el LMH de las hojas inferiores resultó mayor en alta densidad. En el estrato superior, aumentos en la densidad de plantas no generaron cambios del VOH por presentar las hojas de similar (Exp<sub>2</sub>) o ligeramente menor AV (Exp<sub>1</sub>) y similar LQH/LMH (ambos Exps) y por reducirse en igual magnitud ambos componentes (Cuadro 3.2). En ambos Exps, incrementos en la densidad disminuyeron el VOH del estrato medio debido mayormente a una caída del LQH (Cuadro 3.3). Por el contrario para el estrato inferior, el VOH aumentó con la densidad debido al aumento del LQH (Cuadro 3.4).

Se detectó una interacción híbrido  $\times$  densidad significativa ( $p < 0.01$ ) para LQH del estrato superior en el Exp<sub>2</sub>. El cambio de ranking afectó sólo a los híbridos más viejos mientras que los más nuevos, DK72-10 y DK747, sostuvieron los mayores valores de LQH en todas las densidades. Lo mismo se detectó para el AV del estrato inferior ( $p < 0.1$ ) donde estos mismos híbridos presentaron hojas más erectófilas sólo en D8 y D12.

**Cuadro 3.2.** Área foliar promedio (AF), ancho máximo de la hoja (AH), largo máximo de la hoja (LMH), valor de orientación de la hoja (VOH), ángulo de inserción foliar (AV), largo desde la inserción de la hoja al punto de quiebre (LQH), relación LQH/LMH y relación entre la radiación fotosintéticamente activa (RFA) incidente (RFA<sub>i</sub>) y la RFA transmitida (RFA<sub>t</sub>) (RFA<sub>t</sub>/RFA<sub>i</sub>) del estrato superior de cuatro híbridos de maíz (H) cultivados a tres densidades de plantas (D) [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas m<sup>-2</sup>] en dos experimentos a campo (Exp).

		Arquitectura del área foliar del estrato superior							
Exp <sub>1</sub>		AF (cm <sup>2</sup> )	AH (cm)	LMH (cm)	VOH (°)	AV (°)	LQH (cm)	LQH/LMH	RFA <sub>t</sub> /RFA <sub>i</sub>
Hibrido	DK3F22	243.1	6.58b	44.9	37.0b	63.2b	24.7c	0.59c	0.58a
	DK752	262.6	6.91a	47.1	30.3c	57.9c	24.1c	0.53c	0.57ab
	DK747	243.6	6.54b	46.7	36.9b	56.4c	29.3b	0.66b	0.48b
	DK72-10	242.2	6.54b	46.4	50.4a	67.9a	34.2a	0.74a	0.52ab
Densidad	D4	312.0a	7.72a	51.3a	38.4	62.4a	31.1a	0.61	0.72a
	D8	241.4b	6.50b	46.3b	40.6	62.9a	28.5b	0.65	0.46b
	D12	190.2c	5.72c	41.2c	36.9	58.7b	24.7c	0.63	0.43b
H	<i>p</i>	ns	†	ns	***	***	***	***	†
D	<i>p</i>	***	***	***	ns	*	***	ns	***
H × D	<i>p</i>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Exp <sub>2</sub>		AF (cm <sup>2</sup> )	AH (cm)	LMH (cm)	VOH (°)	AV (°)	LQH (cm)	LQH/LMH	RFA <sub>t</sub> /RFA <sub>i</sub>
Hibrido	DK3F22	209.4b	6.18b	40.9c	39.5c	69.5a	21.5d	0.57c	0.47ab
	DK752	273.0a	7.10a	47.9a	49.3b	64.2b	36.6b	0.77b	0.44b
	DK747	222.9b	6.31b	44.5b	47.4b	61.6c	33.6c	0.77b	0.51ab
	DK72-10	227.9b	6.36b	44.8b	61.9a	71.1a	39.1a	0.87a	0.55a
Densidad	D4	290.4a	7.50a	48.7a	49.3	67.9	35.0a	0.73	0.67a
	D8	227.7b	6.40b	44.4b	48.1	65.6	32.4b	0.74	0.45b
	D12	181.8c	5.56c	40.3c	51.3	66.2	30.7b	0.78	0.36c
H	<i>p</i>	***	***	***	***	***	***	***	†
D	<i>p</i>	***	***	***	ns	ns	**	ns	***
H × D	<i>p</i>	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns

Dentro de cada columna, letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). El nivel de significancia de los tratamientos y las interacciones son indicadas con símbolos: †  $p < 0.1$ ; \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; ns: diferencias no significativas.

**Cuadro 3.3.** Área foliar promedio (AF), ancho máximo de la hoja (AH), largo máximo de la hoja (LMH), valor de orientación de la hoja (VOH), ángulo de inserción foliar (AV), largo desde la inserción de la hoja al punto de quiebre (LQH), relación LQH/LMH y relación entre la radiación fotosintéticamente activa (RFA) incidente (RFA<sub>i</sub>) y la RFA transmitida (RFA<sub>t</sub>) (RFA<sub>t</sub>/RFA<sub>i</sub>) del estrato medio de cuatro híbridos de maíz (H) cultivados a tres densidades de plantas (D) [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas m<sup>-2</sup>] en dos experimentos a campo (Exp).

		Arquitectura del área foliar del estrato medio							
Exp <sub>1</sub>		AF (cm <sup>2</sup> )	AH (cm)	LMH (cm)	VOH (°)	AV (°)	LQH (cm)	LQH/LMH	RFA <sub>t</sub> /RFA <sub>i</sub>
Hibrido	DK3F22	545.2a	9.74ab	73.9a	35.2d	61.7b	42.5d	0.57d	0.23b
	DK752	518.4ab	9.79a	70.1b	42.6c	63.5b	47.3c	0.67c	0.29a
	DK747	495.9b	8.98c	73.0a	46.3b	61.6b	55.1b	0.75b	0.23b
	DK72-10	525.2ab	9.46b	73.4a	55.7a	67.0a	61.3a	0.83a	0.23b
Densidad	D4	604.1a	10.62a	75.6a	46.3a	62.7	55.7a	0.73a	0.41a
	D8	514.8b	9.30b	73.4a	46.3a	64.8	52.5b	0.71a	0.20b
	D12	444.6c	8.55c	68.9b	42.3b	62.9	46.5c	0.67b	0.13c
H	<i>p</i>	*	***	*	***	**	***	***	*
D	<i>p</i>	***	***	***	*	ns	***	**	***
H*D	<i>p</i>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Exp <sub>2</sub>		AF (cm <sup>2</sup> )	AH (cm)	LMH (cm)	VOH (°)	AV (°)	LQH (cm)	LQH/LMH	RFA <sub>t</sub> /RFA <sub>i</sub>
Hibrido	DK3F22	511.7ab	9.60b	70.2	53.9b	74.2a	51.4c	0.73c	0.28
	DK752	545.0a	10.08a	71.6	53.3b	71.7b	53.2c	0.74c	0.26
	DK747	466.4c	8.70c	70.9	56.1b	68.4c	58.2b	0.82b	0.33
	DK72-10	505.8b	9.33b	71.7	65.4a	71.6b	65.4a	0.91a	0.31
Densidad	D4	579.7a	10.47a	73.5a	59.7a	72.1	60.7a	0.83a	0.45a
	D8	501.7b	9.36b	71.1ab	55.9b	70.5	56.8b	0.80b	0.26b
	D12	440.2c	8.46c	68.6b	55.9b	71.9	53.7c	0.78b	0.18c
H	<i>p</i>	**	***	ns	***	***	***	***	ns
D	<i>p</i>	***	***	**	**	ns	***	*	***
H*D	<i>p</i>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Dentro de cada columna, letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). El nivel de significancia de los tratamientos y las interacciones son indicadas con símbolos: †  $p < 0.1$ ; \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; ns: diferencias no significativas.

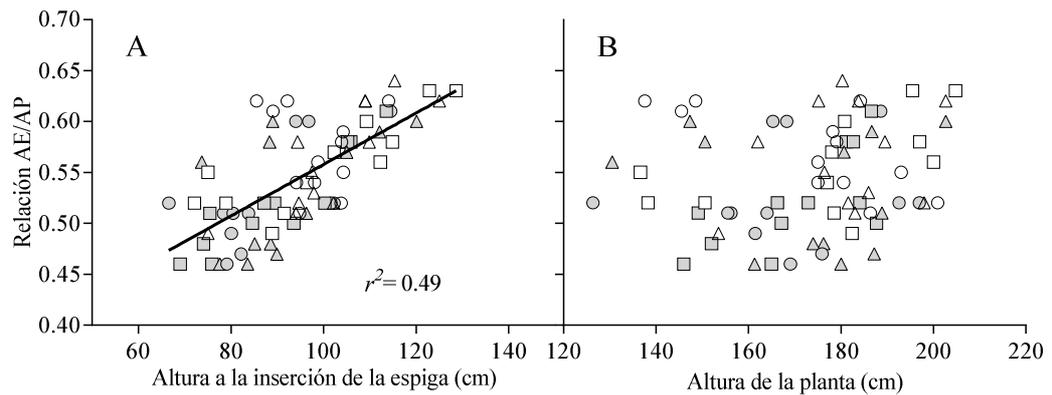
**Cuadro 3.4.** Área foliar promedio (AF), ancho máximo de la hoja (AH), largo máximo de la hoja (LMH), valor de orientación de la hoja (VOH), ángulo de inserción foliar (AV), largo desde la inserción de la hoja al punto de quiebre (LQH), relación LQH/LMH y relación entre la radiación fotosintéticamente activa (RFA) incidente ( $RFA_i$ ) y la RFA transmitida ( $RFA_t$ ) ( $RFA_t/RFA_i$ ) del estrato inferior de cuatro híbridos de maíz (H) cultivados a tres densidades de plantas (D) [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas  $m^{-2}$ ] en dos experimentos a campo (Exp).

Arquitectura del área foliar del estrato inferior									
Exp <sub>1</sub>		AF ( $cm^2$ )	AH (cm)	LMH (cm)	VOH (°)	AV (°)	LQH (cm)	LQH/LMH	$RFA_t/RFA_i$
Hibrido	DK3F22	467.2a	8.01	74.5a	32.4c	63.8ab	38.5c	0.51c	0.13
	DK752	409.8b	8.00	65.9b	33.5c	64.2a	34.6d	0.52c	0.19
	DK747	438.2ab	7.81	72.3a	38.4b	62.6b	44.8b	0.61b	0.16
	DK72-10	464.2a	8.10	74.0a	44.4a	65.4a	50.9a	0.68a	0.17
Densidad	D4	486.4a	8.77a	71.2	35.1b	62.0c	41.0b	0.56b	0.28a
	D8	436.2b	7.78b	71.8	36.2b	64.2b	41.2b	0.56b	0.14b
	D12	412.0b	7.38c	72.0	40.2a	65.8a	44.4a	0.61a	0.07c
H	<i>p</i>	**	ns	***	***	*	***	***	ns
D	<i>p</i>	***	***	ns	***	***	*	**	***
H*D	<i>p</i>	ns	ns	ns	ns	†	ns	ns	ns
Exp <sub>2</sub>		AF ( $cm^2$ )	AH (cm)	LMH (cm)	VOH (°)	AV (°)	LQH (cm)	LQH/LMH	$RFA_t/RFA_i$
Hibrido	DK3F22	587.6ab	9.29a	83.0a	49.3c	72.5a	56.7c	0.68c	0.18
	DK752	550.2bc	9.47a	76.4c	50.1c	72.7a	53.0d	0.69c	0.16
	DK747	527.9c	8.69b	79.8b	52.8b	70.6b	60.2b	0.75b	0.20
	DK72-10	598.7a	9.49a	83.4a	60.0a	71.6ab	70.4a	0.84a	0.22
Densidad	D4	571.6	9.75a	76.3c	50.5c	70.1c	55.5c	0.72b	0.30a
	D8	560.0	9.18b	80.2b	53.1b	71.7b	59.9b	0.74ab	0.16b
	D12	566.7	8.77c	85.5a	55.6a	73.7a	64.9a	0.75a	0.12c
H	<i>p</i>	*	**	***	***	**	***	***	ns
D	<i>p</i>	ns	**	***	***	***	***	*	***
H*D	<i>p</i>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Dentro de cada columna, letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). El nivel de significancia de los tratamientos y las interacciones son indicadas con símbolos: †  $p < 0.1$ ; \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; ns: diferencias no significativas.

### 3.3.1.3. Relaciones entre los rasgos de arquitectura de planta y sus componentes

Las variaciones en AE/AP estuvieron principalmente asociadas con la AE ( $p < 0.0001$ ), explicando este rasgo casi el 50% de los cambios en AE/AP (Fig. 3.1A). Los cambios en la AP originados por los tratamientos no se reflejaron en la AE/AP (Fig. 3.1.B).

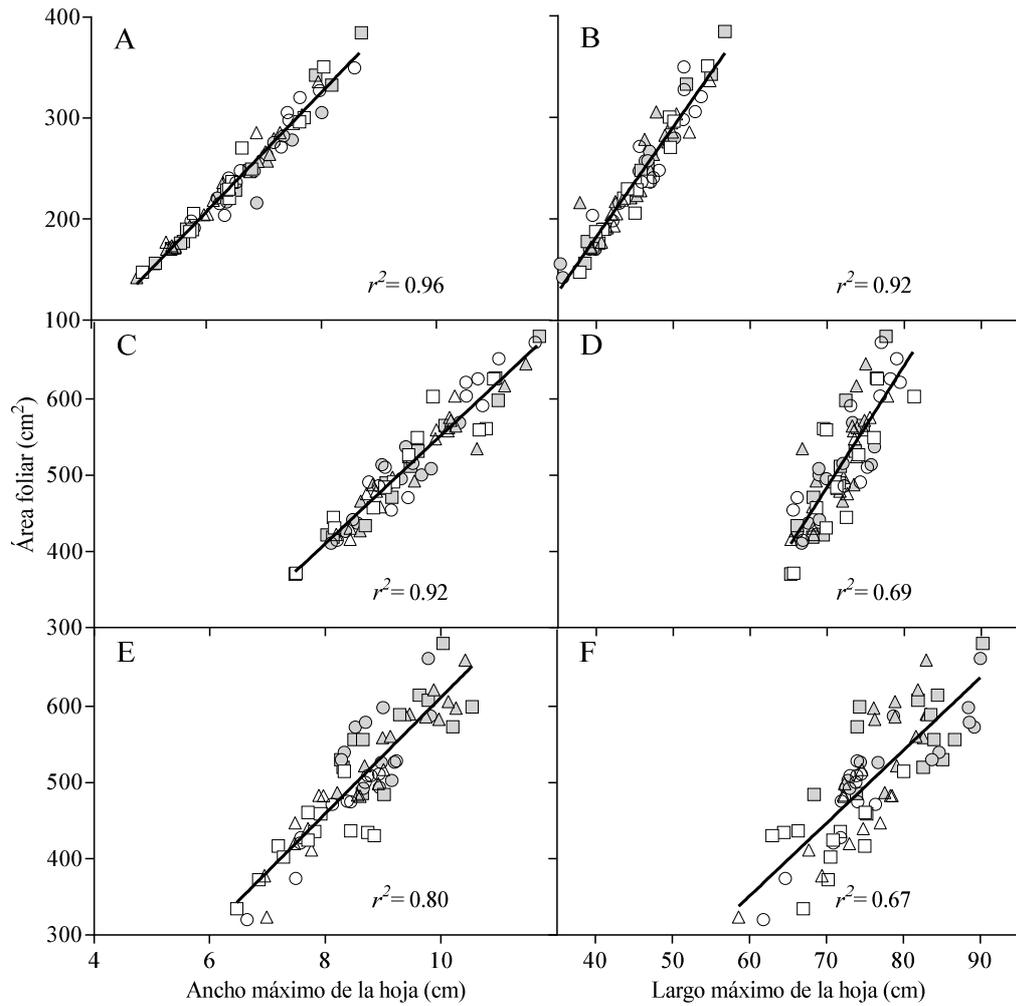


**Figura 3.1.** Relación entre el cociente de la altura a la inserción de espiga (AE) y la altura total de la planta (AP) y sus determinantes para cuatro híbridos de maíz cultivados en tres densidades de plantas (círculos: D4, cuadrados: D8 y triángulos: D12) en dos experimentos (símbolos vacíos: Exp<sub>1</sub> y símbolos llenos: Exp<sub>2</sub>, respectivamente). Cada símbolo identifica el valor correspondiente a cada repetición. La línea representa la función lineal ajustada al conjunto de datos de todos los híbridos bajo las diferentes combinaciones Exp × D × H. Se detalla el coeficiente de determinación.

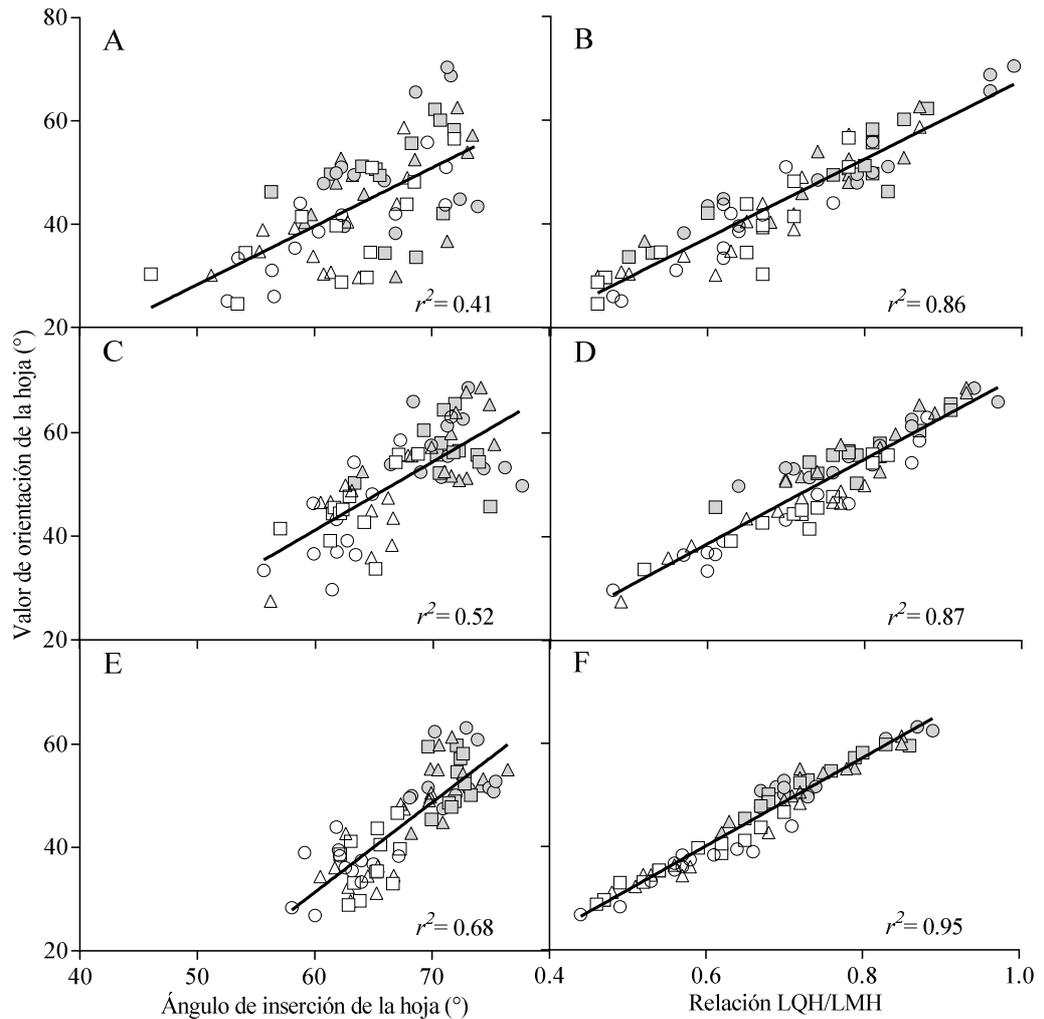
Para los tres estratos foliares, el AF estuvo positiva y mayormente asociada al AH ( $r^2 > 0.80$ ) (Fig. 3.2A, C y E) ( $p < 0.0001$ ). Las variaciones del AF también estuvieron asociadas al LHM (Fig. 3.2B, D y F), pero principalmente para las hojas del estrato superior ( $r^2 = 0.92$ ,  $p < 0.0001$ ).

El VOH, estuvo principalmente asociado con la relación LQH/LMH en los tres estratos estudiados ( $r^2 > 0.85$ ;  $p < 0.0001$ ) en mayor grado que al AV (Fig. 3.3).

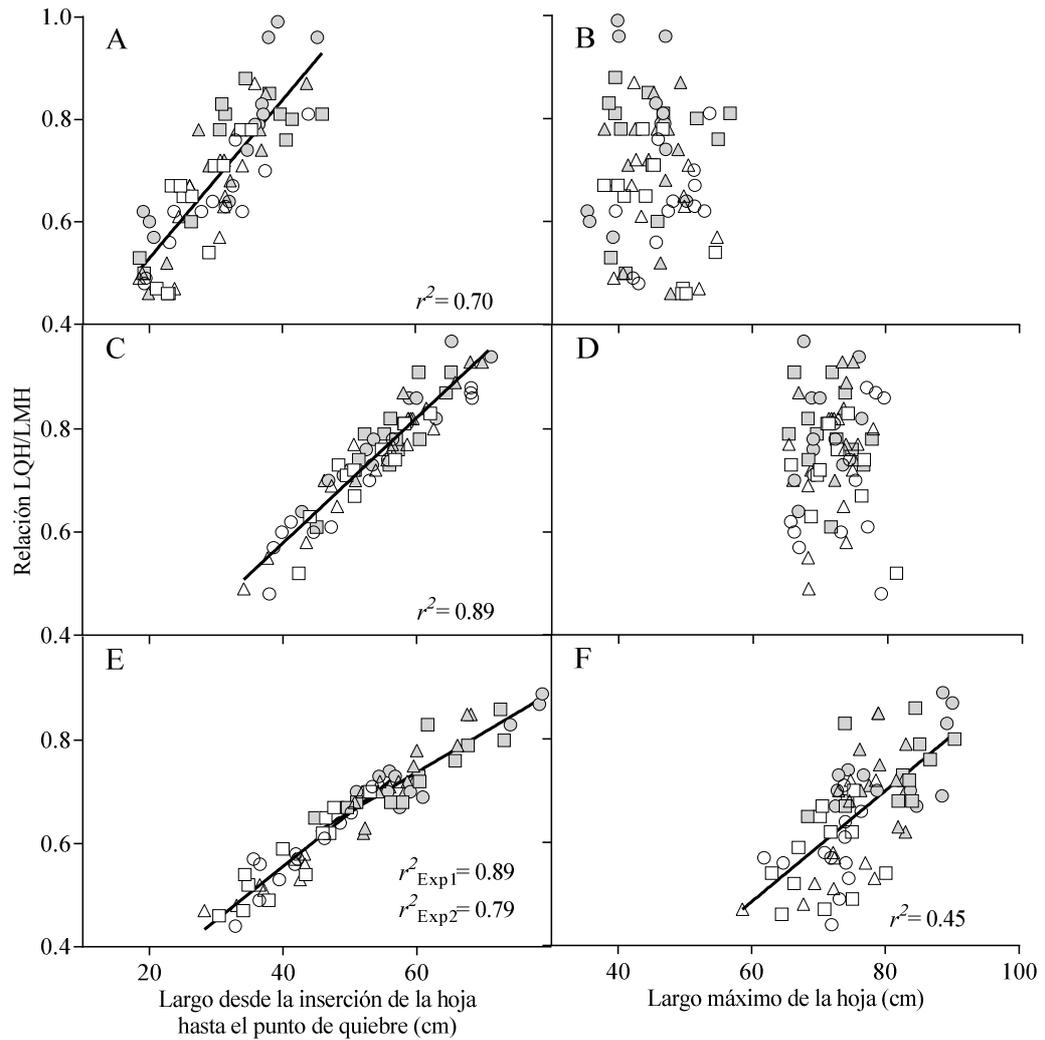
El LQH fue el rasgo que explicó positiva y mayormente las variaciones en LQH/LMH en los tres estratos estudiados ( $r^2 > 0.70$ ;  $p < 0.0001$ , Fig. 3.4A, C y E) mediante una función lineal ajustada al conjunto de datos salvo para el estrato inferior donde se detectó un cambio significativo en la pendiente de la recta entre experimentos. Incrementos en un cm en el LQH generaron aumentos de *ca.* 0.01 en la relación LQH/LMH en el Exp<sub>1</sub>, mientras que en el Exp<sub>2</sub>, estos aumentos fueron de un orden menor (*ca.* 0.008). Sólo se encontró una asociación positiva entre los cambios del LQH/LMH y LMH para el estrato inferior (Fig. 3.4B, D y F), pero que explicó una menor proporción de la variabilidad del LQH/LMH que el LQH.



**Figura 3.2.** Relación entre el área foliar y el ancho máximo (A, C y E) y el largo máximo de las hojas (B, D y F) para cuatro híbridos de maíz cultivados en tres densidades de plantas (círculos: D4, cuadrados: D8 y triángulos: D12) en dos experimentos (símbolos vacíos: Exp<sub>1</sub> y símbolos llenos: Exp<sub>2</sub>, respectivamente). Las Figuras A y B, C y D y E y F, representan las relaciones para el estrato superior, medio e inferior respectivamente. Cada símbolo identifica el valor correspondiente a cada repetición. Las líneas representan la función lineal ajustada al conjunto de datos de todos los híbridos bajo las diferentes combinaciones Exp  $\times$  D  $\times$  H. Se detalla el coeficiente de determinación.



**Figura 3.3.** Relación entre el valor de orientación de la hoja (VOH) y el ángulo de inserción de la hoja (A, C y E) y el VOH y la relación entre el largo de la hoja hasta el punto de quiebre y el largo máximo de la hoja (B, D y F) para cuatro híbridos de maíz cultivados en tres densidades de plantas (círculos: D4, cuadrados: D8 y triángulos: D12) en dos experimentos (símbolos vacíos: Exp<sub>1</sub> y símbolos llenos: Exp<sub>2</sub>, respectivamente). Las Figuras A y B, C y D y E y F, representan las relaciones en el estrato superior, medio e inferior, respectivamente. Cada símbolo identifica el valor correspondiente a cada repetición. Las líneas representan la función lineal ajustada al conjunto de datos de todos los híbridos bajo las diferentes combinaciones Exp  $\times$  D  $\times$  H. Se detalla el coeficiente de determinación.



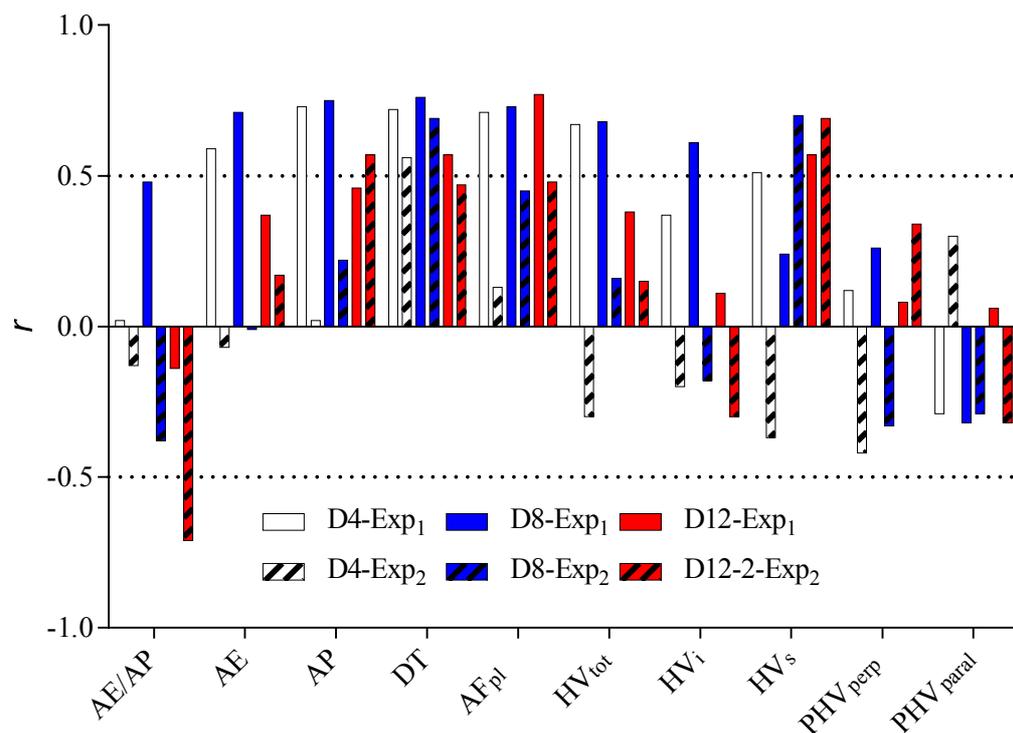
**Figura 3.4.** Relación entre el cociente del largo desde la inserción de la hoja hasta el punto de quiebre (LQH) y el largo máximo de la hoja (LMH) y el LQH (LQH/LMH; A, C y E) y entre LQH/LMH y el LMH (B, D y F) para cuatro híbridos de maíz cultivados en tres densidades de plantas (círculos: D4, cuadrados: D8 y triángulos: D12) en dos experimentos (símbolos vacíos: Exp<sub>1</sub> y símbolos llenos: Exp<sub>2</sub>, respectivamente). Las Figuras A y B, C y D y E y F, representan las relaciones en el estrato superior, medio e inferior, respectivamente. Cada símbolo identifica el valor correspondiente a cada repetición. La línea representa la función lineal ajustada al conjunto de datos de todos los híbridos bajo las diferentes combinaciones Exp × D × H. Se detalla el coeficiente de determinación.

### 3.3.2. Conexiones entre los rasgos arquitecturales de planta, el crecimiento de las plantas durante el período crítico y la eficiencia reproductiva de la espiga

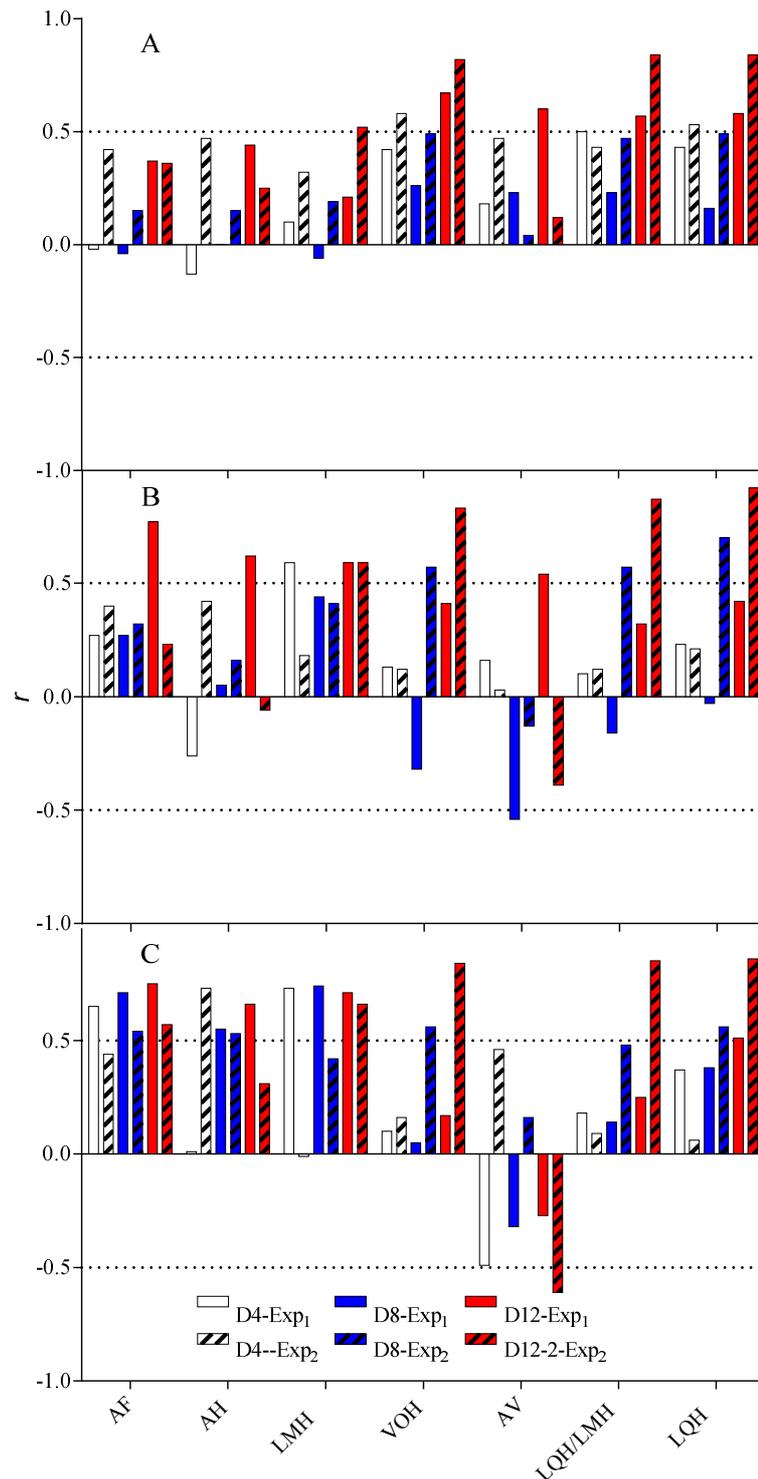
#### 3.3.2.1. Correlaciones entre la arquitectura y el crecimiento de las plantas

Las correlaciones entre la  $TCP_{PC}$  y los rasgos que caracterizan la arquitectura de las plantas no resultaron estables y consistentes a través de los Exps y densidades (Fig. 3.5). Así, AE, AP,  $HV_{tot}$  y AF se asociaron positivamente con  $TCP_{PC}$  mayormente en D4 y D8 del  $Exp_1$ ,  $HV_i$  sólo en D8 del  $Exp_1$  mientras que  $HV_s$  en 4 de las 6 combinaciones  $Exp \times D$ . Por el contrario, DT mostró una asociación positiva con la  $TCP_{PC}$  para casi todas las combinaciones  $Exp \times D$ . Sólo AE/AP en D12 del  $Exp_2$  presentó una correlación negativa con  $TCP_{PC}$ .

Cuando se analizó la relación entre los rasgos por estrato y la  $TCP_{PC}$  se detectó que para el estrato medio el AF y sus componentes (AH y LMH) se correlacionaron positivamente con la  $TCP_{PC}$  sólo en D12 del  $Exp_1$  (Fig. 3.6B) mientras que en D12 del  $Exp_2$ , la  $TCP_{PC}$  sólo se correlacionó con el LMH del estrato superior (Fig. 3.6A). Sin embargo, para el estrato inferior se detectaron correlaciones positivas del AF y del AH con la  $TCP_{PC}$  para la mayoría de las combinaciones  $Exp \times D$  (Fig. 3.6C). Las correlaciones más altas ( $r = 0.82$  hasta  $0.92$ ) se registraron en D12 del  $Exp_2$  entre VOH, LQH y LQH/LMH y la  $TCP_{PC}$  para los tres estratos evaluados (Fig. 3.6A, B y C).

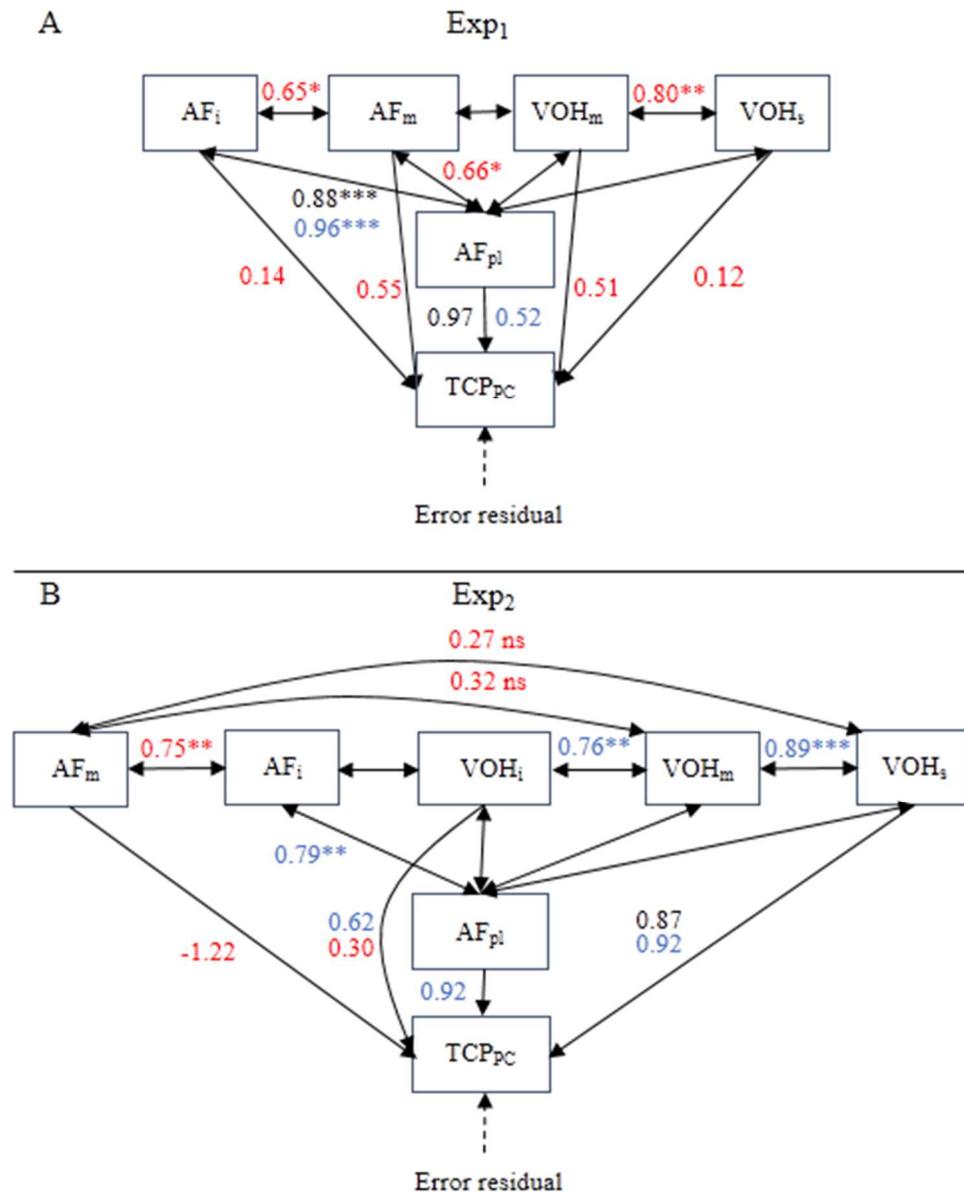


**Figura 3.5.** Correlaciones entre la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico ( $TCP_{PC}$ ) y la relación entre la altura a la inserción de la espiga (AE) y la altura de la planta (AP) (AE/AP), AE, AP, diámetro de la base del tallo (DT), área foliar acumulada por planta ( $AF_{pl}$ ), número de hojas verdes totales ( $HV_{tot}$ ), por debajo de la espiga ( $HV_i$ ) y por encima de la espiga ( $HV_s$ ), proporción de hojas verdes perpendiculares ( $PHV_{perp}$ ), y paralelas a la hilera ( $PHV_{paral}$ ) de cuatro híbridos de maíz cultivados a tres densidades de plantas [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas  $m^{-2}$ ] en dos experimentos a campo ( $Exp_1$  y  $Exp_2$ ). Las líneas punteadas indican un valor de correlación de 0.5 y -0.5 entre variables. Las correlaciones  $\geq \pm 0.5$  y  $\leq 0.57$  fueron significativas a  $p < 0.1$  y las  $\geq \pm 0.58$  fueron significativas  $p < 0.05$ .



**Figura 3.6.** Correlaciones entre la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico ( $TCP_{PC}$ ) y el área foliar (AF), el ancho máximo de la hoja (AH), el largo máximo de la hoja (LMH), el valor de orientación de la hoja (VOH), el ángulo de inserción de la hoja (AV), la relación entre el largo desde la inserción de la hoja al punto de quiebre (LQH) y el LMH (LQH/LMH) y el LQH en el estrato superior (A), medio (B) e inferior (C) de cuatro híbridos de maíz cultivados a tres densidades de plantas [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas  $m^{-2}$ ] en dos experimentos a campo (Exp<sub>1</sub> y Exp<sub>2</sub>). Las líneas punteadas indican un valor de correlación de 0.5 y -0.5 entre variables. Las correlaciones  $\geq \pm 0.5$  y  $\leq 0.57$  fueron significativas a  $p < 0.1$  y las  $\geq \pm 0.58$  fueron significativas a  $p < 0.05$ .

El diagrama de sendero de la Fig. 3.7, muestra para cada Exp, la descomposición de las correlaciones significativas directas e indirectas entre las principales variables que determinan la arquitectura de las plantas con la  $TCP_{PC}$ .



**Figura 3.7.** Diagrama de sendero mostrando relaciones causales entre la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico ( $TCP_{PC}$ , variable dependiente) y las principales variables que definen el tamaño y la arquitectura del área foliar (variables independientes) como el área foliar acumulada por planta ( $AF_{pl}$ ) y el área foliar promedio de las hojas en el estrato medio ( $AF_m$ ) e inferior ( $AF_i$ ), y valor de orientación de la hoja en el estrato superior ( $VOH_s$ ), medio ( $VOH_m$ ) e inferior ( $VOH_i$ ). Los diagramas incluyen los datos correspondientes al experimento 1 (A) y al experimento 2 (B). Dentro de cada diagrama los números en color negro, azul y rojo indican los senderos implicados en la determinación de las correlaciones de los datos de cuatro híbridos de maíz sembrados a 4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas  $m^{-2}$ , respectivamente. Las flechas dobles representan asociaciones mutuas entre variables estimadas a partir del coeficiente de correlación ( $r$ ) y las flechas simples representan influencias directas estimadas a partir de los coeficientes de sendero. Los valores de correlación ( $r$ ) entre cada variable independiente y la variable dependiente se presentan en el la Figura 3.4 y 3.5. Los niveles de significancia de las correlaciones son indicadas con \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  y ns: diferencias no significativas.

En el Exp<sub>1</sub>, para D4 y D8 se detectó asociación positiva directa con el AF<sub>pl</sub> e indirecta y positiva con el AF<sub>i</sub> a través del AF<sub>pl</sub> (Fig. 3.7A). En D12, se detectó asociación positiva directa con el AF<sub>m</sub>, indirecta y positiva con AF<sub>pl</sub> y AF<sub>i</sub> ambas a través del AF<sub>m</sub> ( $r \geq 0.65$  entre ellas) e indirecta y positiva con VOH<sub>s</sub> a través del VOH<sub>m</sub>.

En el Exp<sub>2</sub>, en D4 no se encontraron asociaciones de los rasgos con la TCP<sub>PC</sub> (Fig. 3.7B). En D8, AF<sub>pl</sub>, VOH<sub>s</sub> y VOH<sub>i</sub> tuvieron una asociación directa con la TCP<sub>PC</sub>, e indirecta y positiva de VOH<sub>m</sub> y AF<sub>i</sub> a través de su efecto indirecto sobre VOH<sub>s</sub> y AF<sub>pl</sub>, respectivamente. En D12 la TCP<sub>PC</sub> se asoció positivamente con AF<sub>i</sub> debido al efecto indirecto de éste sobre el AF<sub>m</sub>.

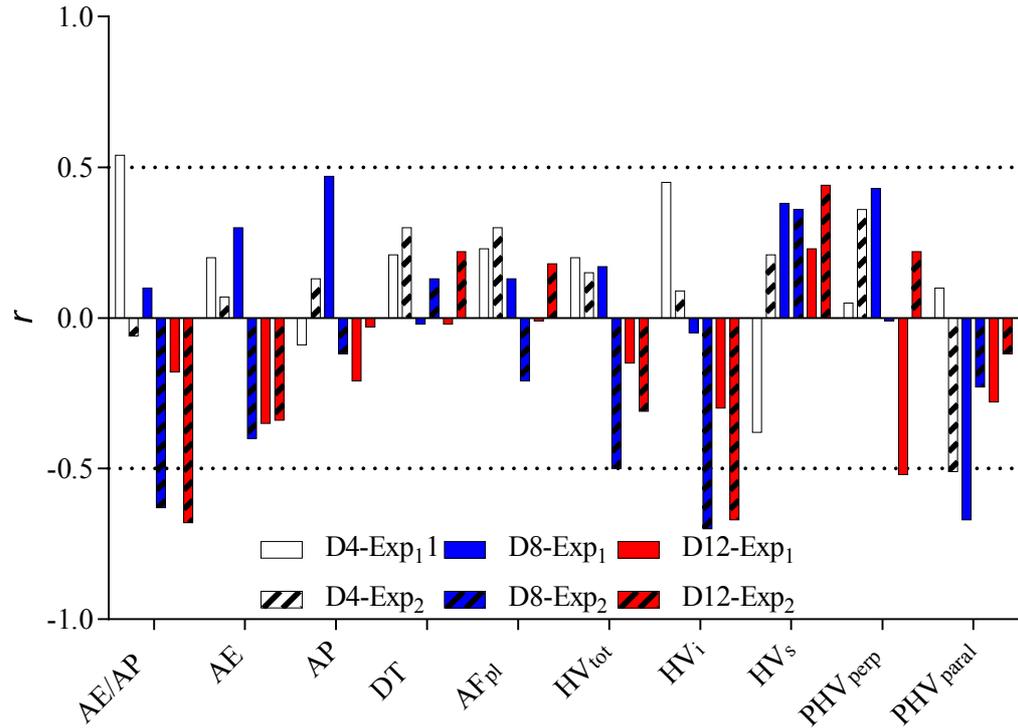
### 3.3.2.2. Correlaciones entre la arquitectura de la planta y del área foliar con la eficiencia en la fijación de granos

En D4 sólo se detectó una correlación positiva entre AE/AP y NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> en el Exp<sub>1</sub> (Fig. 3.8). Para D8 y D12 se registraron correlaciones negativas entre AE/AP y HV<sub>i</sub> con NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> en el Exp<sub>2</sub> y del PHV<sub>paral</sub> con NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> en D8 del Exp<sub>1</sub>.

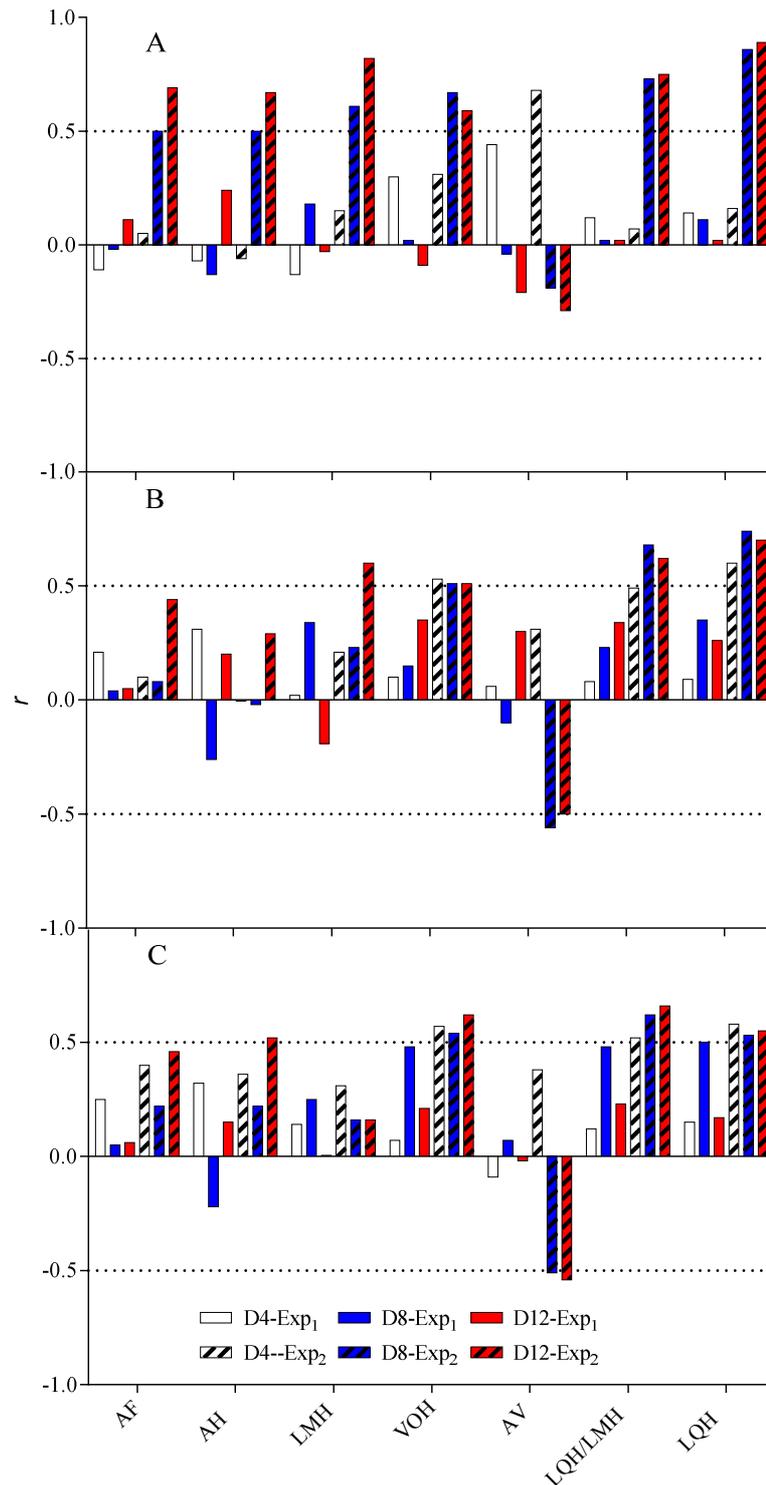
Analizando las correlaciones entre los rasgos de arquitectura por estrato y la NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> (Fig. 3.9) se observa un patrón inverso a lo descrito para la TCP<sub>PC</sub>, ya que todos los rasgos del estrato superior con excepción del AV presentaron correlaciones altas y positivas con la NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> principalmente en D12 del Exp<sub>2</sub> mientras que en D4 de ambos experimentos, el AF y su arquitectura, presentaron una correlación baja con NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> (Fig. 3.9A). Cuando se analizaron las asociaciones de los rasgos para el estrato medio e inferior, VOH y sus componentes (con excepción del AV) presentaron correlaciones significativas y positivas con la NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> incluso a la densidad más baja del Exp<sub>2</sub> (Fig. 3.9B, C).

Debido a que sólo se detectaron correlaciones significativas entre el AF y su arquitectura con la NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> del Exp<sub>2</sub>, sólo se realizó el diagrama de sendero con el conjunto de datos de dicho experimento (Fig. 3.10). En el mismo, también se incluyó a la TCP<sub>PC</sub> como variable independiente, para conocer si la misma actúa directamente o indirectamente sobre la NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup>.

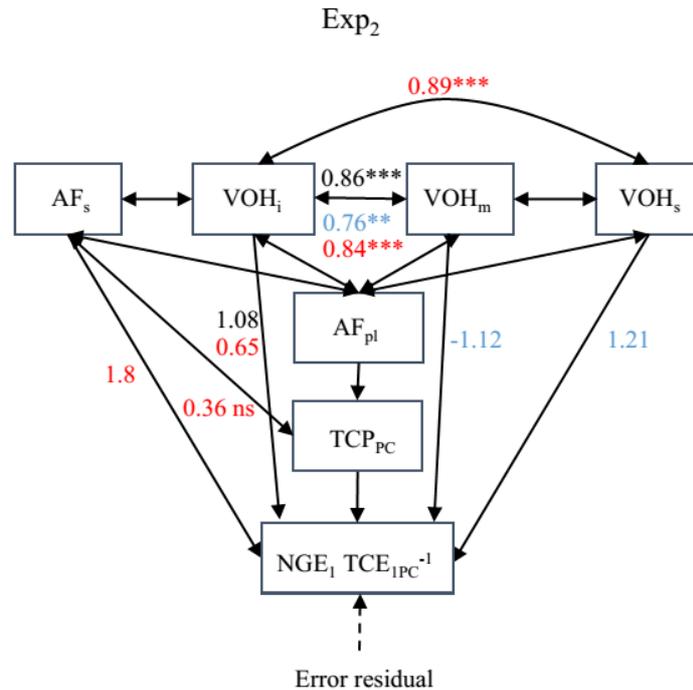
Para D4, existió una asociación directa y positiva entre VOH<sub>i</sub> y NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> mientras que el VOH<sub>m</sub>, lo hizo indirectamente a través del VOH<sub>i</sub>. Para D8, VOH<sub>s</sub> y VOH<sub>m</sub>, se correlacionaron con la NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> debido mayormente a su efecto directo mientras que el VOH<sub>i</sub> lo hizo indirectamente a través del VOH<sub>m</sub>. Solo en D12 se detectó una correlación positiva y significativa entre TCP<sub>PC</sub> y NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> ( $r = 0.67$ ,  $p < 0.05$ ) principalmente por su efecto indirecto a través del AF<sub>s</sub>, la cual presentó un efecto directo sobre NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup>. Por otro lado, el VOH del estrato inferior fue el único que en D12 se correlacionó directamente con NGE<sub>1</sub> TCE<sub>1PC</sub><sup>-1</sup> mientras que VOH<sub>s</sub> y VOH<sub>m</sub> lo hicieron indirectamente a través de VOH<sub>i</sub>.



**Figura 3.8.** Correlaciones entre la eficiencia reproductiva de la espiga apical ( $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$ ) y la relación entre la altura a la inserción de la espiga (AE) y la altura de la planta (AP) (AE/AP), AE, AP, diámetro de la base del tallo, área foliar acumulada por planta ( $AF_{pl}$ ), número de hojas verdes totales ( $HV_{tot}$ ), por debajo de la espiga ( $HV_i$ ) y por encima de la espiga ( $HV_s$ ), proporción de hojas verdes perpendiculares ( $PHV_{perp}$ ), y paralelas a la hilera ( $PHV_{paral}$ ) de cuatro híbridos de maíz cultivados a tres densidades de plantas [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas  $m^{-2}$ ] en dos experimentos a campo (Exp<sub>1</sub> y Exp<sub>2</sub>). Las líneas punteadas indican un valor de correlación de 0.5 y -0.5 entre variables. Las correlaciones  $\geq \pm 0.5$  y  $\leq 0.57$  fueron significativas a  $p < 0.1$  y las  $\geq \pm 0.58$  fueron significativas  $p < 0.05$ .



**Figura 3.9.** Correlaciones entre la eficiencia reproductiva de la espiga apical ( $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$ ) y el área foliar (AF), el ancho máximo de la hoja (AH), el largo máximo de la hoja (LMH), el valor de orientación de la hoja (VOH), el ángulo de inserción de la hoja (AV), la relación entre el largo desde la inserción de la hoja al punto de quiebre (LQH) y el LMH (LQH/LMH) y el LQH en el estrato superior (A), medio (B) e inferior (C) de cuatro híbridos de maíz cultivados a tres densidades de plantas [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas  $m^{-2}$ ] en dos experimentos a campo (Exp<sub>1</sub> y Exp<sub>2</sub>). Las líneas punteadas indican un valor de correlación de 0.5 y -0.5 entre variables. Las correlaciones  $\geq \pm 0.5$  y  $\leq 0.57$  fueron significativas a  $p < 0.1$  y las  $\geq \pm 0.58$  fueron significativas a  $p < 0.05$ .



**Figura 3.10.** Diagrama de sendero mostrando relaciones causales entre la eficiencia reproductiva de la espiga apical ( $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$ , variable dependiente) con la tasa de crecimiento de la planta durante el período crítico ( $TCP_{PC}$ ) y las principales variables que definen el tamaño y la arquitectura del área foliar (variables independientes) como el área foliar acumulada por planta ( $AF_{pl}$ ) y el área foliar promedio de las hojas en el estrato superior ( $AF_s$ ) y valor de orientación de la hoja en el estrato superior ( $VOH_s$ ), medio ( $VOH_m$ ) e inferior ( $VOH_i$ ). Los diagramas incluyen los datos correspondientes al experimento 2. Dentro de cada diagrama los números en color negro, azul y rojo indican los senderos implicados en la determinación de las correlaciones de los datos de cuatro híbridos de maíz sembrados a 4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas  $m^{-2}$ , respectivamente. Las flechas dobles representan asociaciones mutuas entre variables estimadas a partir del coeficiente de correlación ( $r$ ) y las flechas simples representan influencias directas estimadas a partir de los coeficientes de sendero. Los valores de correlación ( $r$ ) entre cada variable independiente y la variable dependiente se presentan en el la Figura 3.4 y 3.5. Los niveles de significancia de las correlaciones son indicadas con \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  y ns: diferencias no significativas.

### 3.4. Discusión

#### 3.4.1. El híbrido y la densidad impactan en la arquitectura de las plantas

La arquitectura de las plantas de un canopeo definida en términos del tamaño, forma y orientación de sus componentes, determina la intercepción de luz por el cultivo y la penetración de la misma en los diferentes estratos del canopeo (Maddonni *et al.*, 2001b). El ideotipo para AD, debería presentar una estructura de planta que maximice la captura de radiación a nivel de cultivo, pero que atenúe la interferencia entre las plantas de manera de atenuar la reducción en la TCP<sub>PC</sub> y consecuentemente en el NGP (Ku *et al.*, 2015). Retrospectivamente, el mejoramiento generó cambios hacia estructuras de plantas más compactas que permitieron un mejor desempeño del cultivo en AD (Russell, 1985; Russell, 1991; Duvick, 1997; Duvick y Cassman, 1999; Tollenaar y Wu, 1999; Troyer, 2000; Sangoi *et al.*, 2002; Duvick, 2005a; Chen *et al.*, 2017).

En esta tesis se realizó una detallada descripción de diversos rasgos arquitecturales de planta de cuatro híbridos de maíz liberados en diferentes décadas, cultivados en tres densidades de plantas (sub-óptimas, óptimas y supra-óptimas) durante dos campañas. La mayoría de los rasgos difirieron entre híbridos y densidades dentro de cada experimento y salvo en casos excepcionales, el ranking de genotipos se mantuvo estable a través de las densidades, sin generar interacciones H × D significativas, lo que sugeriría una similar sensibilidad de los híbridos para los rasgos analizados a los cambios en la densidad de plantas.

Los rasgos asociados con la arquitectura del tallo, tales como AE y AP, han disminuido a través de los años para prevenir el vuelco de las plantas (Johnson *et al.*, 1986). Los resultados de esta tesis no mostraron dicha tendencia para estos rasgos. Sin embargo, la AE/AP disminuyó desde los híbridos más antiguos a los más modernos en ambos Exps, mientras que el DT no siguió un patrón definido coincidiendo con los resultados de Wang *et al.* (2011b) evaluando 29 híbridos de maíz liberados en China entre los años 1964 y 2001. Los cambios en AE/AP podrían estar asociados con un diferente número de nudos por encima de la espiga y/o a una distinta elongación de los entrenudos por debajo y por encima del nudo de inserción de la espiga. Los híbridos más nuevos presentaron un menor HV<sub>i</sub> y mayor HV<sub>s</sub> lo que explicaría su menor AE/AP. La introducción del gen *lfy* (Shaver, 1983) podría explicar este fenotipo debido a que ha generado plantas que presentan hojas extras por encima de la espiga (*i.e.*, mayor HV<sub>s</sub>) (Subedi y Ma, 2005). Contrariamente al mayor AF<sub>pl</sub> de los híbridos modernos descrito por varios autores (Subedi y Ma, 2005; Ci *et al.*, 2012; Ma *et al.*, 2014; Zhai *et al.*, 2016), los híbridos más nuevos evaluados en este capítulo, no presentaron una mayor AF<sub>pl</sub>.

Hasta el momento de la realización de esta tesis, sólo un trabajo (Ma *et al.*, 2014) describió detalladamente los cambios arquitecturales en los diferentes estratos del canopeo de híbridos liberados en diferentes décadas y uno posterior (Zhao *et al.*, 2015) analizó los cambios en la penetración de luz a través de dichos estratos. Los resultados de este capítulo generan un aporte original ya que describen conjuntamente, los cambios en el AF<sub>pl</sub> y su arquitectura en tres estratos (superior, medio e inferior) del canopeo y la atenuación lumínica en estos estratos, para híbridos argentinos de diferentes épocas del mejoramiento. Los híbridos evaluados presentaron la típica distribución del AF en forma de campana donde el estrato superior presentó las hojas de menor AF, el estrato medio las de mayor AF y el inferior valores intermedios de AF (Dwyer y Stewart, 1986). Los híbridos no presentaron grandes diferencias en el AF promedio del estrato superior y medio. Sin embargo, en el estrato inferior, el híbrido más nuevo (DK72-10) presentó hojas de mayor tamaño principalmente asociadas a un mayor AH que LMH.

Sorprendentemente y en contraste con los trabajos de Duvick *et al.* (2004), Lee y Tollenaar (2007), Wang *et al.* (2011b), Ci *et al.* (2012) y Ma *et al.* (2014), el híbrido más nuevo y el más antiguo evaluados en este capítulo no difirieron fuertemente en el AV promedio de los diferentes estratos. Sin embargo, el DK72-10 presentó una estructura de planta más compacta debido a un mayor VOH en los tres estratos, generado por un mayor LQH/LMH asociado al elevado LQH. Ma *et al.* (2014) y Zhao *et al.* (2015) detectaron que los mayores VOH en el estrato superior y en aquel que rodea la espiga se correlacionaron con una mayor penetración de luz en estas capas, mientras que las diferencias de arquitectura encontradas en este capítulo entre híbridos nuevos y viejos no se tradujeron en diferencias de  $RFA_t/RFA_i$  en los tres estratos. Posiblemente los niveles de  $AF_{pl}$  de los genotipos en los Exps de esta tesis, no permitieron detectar los efectos de un distinto reordenamiento del canopeo sobre la atenuación de luz.

El incremento en la densidad disminuyó la  $RFA_t/RFA_i$  y el  $AF_{pl}$  y aumentó la  $AE/AP$ , lo que estaría indicando que la menor disponibilidad lumínica, generó un fuerte efecto sobre la expansión de los tejidos vegetativos, pero promovió la elongación de los entrenudos basales en detrimento de los apicales. Estas reacciones foto-morfogénicas, descritas en el denominado síndrome de evasión al sombreado, responden a los cambios en la calidad de la luz, la cual al transmitirse a través de la vegetación se agota en rojo (R) y se enriquece fuertemente en rojo lejano (RL). El flujo de baja relación R/RL que reciben las plantas incluso antes de alcanzarse el sombreado directo, actúa como una señal temprana de proximidad de plantas vecinas (Casal *et al.*, 1986; Ballaré *et al.*, 1990). Estos cambios percibidos por el fitocromo B (Kebrom y Brutnell, 2007), aumentan la dominancia apical (Smith y Whitelam, 1997) y promueven la elongación y el afinamiento de los tallos y las hojas (Ballaré *et al.*, 1990). En los canopeos densos, la fuerte competencia por luz en los estratos inferiores podría generar una mayor respuesta en los entrenudos por debajo de la espiga explicando la mayor  $AE/AP$  mencionada anteriormente. Dicha elongación del tallo, no fue asociada a mayores pesos secos en diferentes especies lo que sugeriría un afinamiento del DT (López-Juez *et al.*, 1992; Casal *et al.*, 1994) tal como fue registrado en los híbridos evaluados en este capítulo. Estos cambios en la arquitectura del tallo, incrementarían la propensión al vuelco de las plantas (Sangoi *et al.*, 2002), aunque este efecto no fue observado en los experimentos de esta tesis.

A nivel de hoja, el aumento de la competencia intra-específica por radiación generó una reducción del AF en los tres estratos analizados pero sin producir cambios en la distribución del AF (forma de campana) lo que confirma los resultados reportados por Andrieu *et al.* (2006) al analizar sólo el LHM. El rasgo más sensible que generó los cambios en el AF del estrato superior y medio fue el AH mientras que para el estrato inferior la densidad generó hojas con menor AH pero mayor LMH. Esta mayor longitud, se debería principalmente al incremento en la duración de la extensión de la lámina que generan las altas densidades de plantas durante la fase de extensión lineal del modelo cinético bi-fásico reportado por Andrieu *et al.* (2006) y que son debidas parcialmente a las respuestas foto-morfogénicas a un ambiente enriquecido en rojo lejano (Casal *et al.*, 1987; Kasperbauer y Karlen, 1994; Ballaré y Casal, 2000). Independientemente a lo registrado en el estrato inferior para el LMH, se destaca al AH como rasgo a considerar para la fenotipificación rápida del AF de los tres estratos del canopeo.

### 3.4.2. Conexión entre la arquitectura de la planta y del área foliar con el crecimiento de las plantas y la eficiencia en la fijación de granos de la espiga.

Hasta el momento de la realización de esta tesis, ningún trabajo había analizado el impacto de la arquitectura de las plantas sobre la  $TCP_{PC}$  y la  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$ . Ambos rasgos fueron detectados en el Capítulo anterior como muy sensibles a los cambios en la densidad, y principales determinantes del  $NGE_1$  que fue el componente que determinó mayormente el RGP, especialmente en AD.

En coincidencia con lo reportado por varios autores, mayores VOH (a través de una mayor LQH/LMH) en los distintos estratos generan canopeos más compactos. En este capítulo, el VOH se correlacionó positivamente con la  $TCP_{PC}$  y  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$  en ambientes donde la radiación por planta fue el recurso más limitante (D8-D12). En varios trabajos se encontraron asociaciones positivas entre la característica de canopeo compacto especialmente para el estrato superior y el RG en cultivos de maíz con  $IAF > 3$  (Duncan, 1971; Tollenaar y Wu, 1999; Ku *et al.*, 2010), evidenciando un efecto positivo de la mayor penetración de luz en el canopeo posiblemente sobre la tasa fotosintética de las hojas cercanas a la espiga (Duncan, 1971; Long *et al.*, 2006; Hammer *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2015). Sin embargo, ninguno de estos trabajos había asociado al rasgo “canopeo compacto” con las variables fisiológicas determinantes del NGP. El efecto combinado del IAF y canopeo compacto sobre los componentes fisiológicos del NGP fue confirmado por la descomposición de las correlaciones entre el AF y el VOH de los diferentes estratos con la  $TCP_{PC}$  y la  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$  (Fig. 3.6 y 3.9), debido a que el VOH se correlacionó con estos rasgos en condiciones de alto IAF (*i.e.*, densidades medias a altas). Los rasgos implicados directa o indirectamente en la definición de la  $TCP_{PC}$  y la  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$  son aquellos que caracterizaron al híbrido más nuevo (DK72-10), con lo cual se puede especular que su proceso de selección se ha desarrollado en condiciones de alto IAF (*i.e.*, densidades altas) donde su estructura compacta atribuible al alto VOH (por mayor LQH), ha generado probablemente una ventaja competitiva en términos de RGP ante el resto de los genotipos evaluados en el programa de mejoramiento.

En consecuencia, los resultados de este capítulo rechazan parcialmente la hipótesis de trabajo (*Los híbridos modernos, presentan una estructura de planta más compacta que aumenta la interceptación de luz a la altura de la espiga con un consecuente aumento de  $TCP_{PC}$  y  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$  bajo condiciones de canopeos densos (*i.e.*, altas densidades de plantas)*) ya que no se registraron cambios en la captura de radiación a la altura de la espiga entre genotipos, ni en la  $TCP_{PC}$  pero si el híbrido más nuevo presentó una estructura de planta más compacta y una mayor  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$ . Futuros trabajos deberían dilucidar los mecanismos involucrados en la mayor eficiencia reproductiva de la espiga apical, *a priori* no asociada al balance de carbono en el estrato del canopeo alrededor de la espiga.

### 3.5. Conclusiones

Los resultados de este capítulo mostraron que hubo un fuerte efecto del híbrido y de la densidad sobre los rasgos de la arquitectura de la planta y de las hojas de los diferentes estratos evaluados. Los híbridos más nuevos (DK747 y DK72-10) se caracterizaron por poseer una menor AE y consecuentemente una menor relación AE/AP lo que podría reflejarse en una menor propensión al vuelco en AD. Adicionalmente, el híbrido más nuevo (DK72-10) sostuvo una elevada  $AF_{pl}$  y una estructura de planta más compacta en AD, debido a un mayor VOH en todos los estratos del canopeo, que permitió sostener una similar atenuación de radiación a la de los demás genotipos con menor  $AF_{pl}$ . Mayores  $AF_i$  y  $AF_m$  se asocian directa o

indirectamente a través del  $AF_{PI}$  con  $TCP_{PC}$ . En D8 y D12, los mayores VOH se asociaron con mayores  $TCP_{PC}$  y  $NGE_1 TCE_{IPC}^{-1}$  mediante su efecto directo principalmente en el estrato inferior o indirecto en el medio y superior.

En el próximo Capítulo se analiza principalmente el impacto de la AD sobre las bases genéticas (*i.e.*, QTLs) que determinan la expresión de los mismos rasgos de arquitectura de planta y de hoja evaluados en este Capítulo, con especial énfasis sobre aquellos que impactan directa o indirectamente sobre la  $TCP_{PC}$  y  $NGE_1 TCE_{IPC}^{-1}$ .

**Caracterización fenotípica y disección genética de caracteres  
arquitecturales relacionados con la tolerancia al estrés por  
alta densidad de plantas en maíz (*Zea mays* L.)**

#### 4.1. Introducción

Numerosos estudios han examinado las variaciones fenotípicas de la arquitectura de las plantas de maíz en respuesta al estrés por AD (Williams *et al.*, 1968; Tetio-Kagho y Gardner, 1988; Troyer, 1996; Drouet y Moulia, 1997; Maddonni *et al.*, 2001b; Maddonni *et al.*, 2002; Sangoi *et al.*, 2002; Duvick, 2005a; Subedi *et al.*, 2006; Mansfield y Mumm, 2014). También se detectaron regiones del genoma asociadas a las variaciones en estas características entre genotipos usando el mapeo de loci de caracteres cuantitativos o QTLs en diferentes poblaciones de mapeo (Mickelson *et al.*, 2002; Gonzalo *et al.*, 2006; Pelleschi *et al.*, 2006; Yu *et al.*, 2006; Lu *et al.*, 2007; Gonzalo *et al.*, 2010; Ku *et al.*, 2010; Tian *et al.*, 2011). Sin embargo, pocos trabajos han estudiado la interacción entre QTLs y densidad de plantas (Gonzalo *et al.*, 2006; Gonzalo *et al.*, 2007; Gonzalo *et al.*, 2010; Guo *et al.*, 2011). Dos publicaciones recientes (Ku *et al.*, 2015; Ku *et al.*, 2016), iniciadas paralelamente a los trabajos de esta tesis en 2012, reportaron regiones del genoma AD-específicas para características asociadas a la AP y la arquitectura de las hojas evaluando cuatro poblaciones de líneas endocriadas recombinantes (RILs, de sus siglas en inglés) cultivadas a 6 y 12 pl m<sup>-2</sup>, aunque no integraron todas las características estudiadas en un mismo análisis. Esto, hubiera permitido estimar no sólo la presencia de QTLs involucrados en más de un rasgo en una misma posición (co-localización) sino también las modificaciones en la expresión del rasgo en relación con los cambios de la densidad de plantas y el ambiente. Tampoco utilizaron una aproximación multi-carácter multi-ambiente (MCMA) en su análisis, que permitiría detectar correlaciones entre las variables a través de las densidades y los ambientes explorados. Con esta metodología podría detectarse si algún/nos QTLs son constitutivos, es decir que se expresan independiente de las condiciones ambientales (Seki *et al.*, 2002) o adaptativos (o condición específica) generando cambios que modifiquen el comportamiento de los rasgos bajo una situación de estrés como la AD.

En este capítulo, se mapearon QTLs utilizando una aproximación MCMA en la población pública de RILs IBM (B73×Mo17) Syn4, con la finalidad de estudiar las bases genéticas de rasgos asociados a la arquitectura de las plantas de maíz en respuesta al incremento en la densidad.

En este capítulo se ponen a prueba las siguientes hipótesis:

- i) Existe variabilidad dentro de la población de RILs IBM (B73×Mo17) Syn4 para los rasgos arquitecturales, que conjuntamente con información de marcadores moleculares, permite detectar regiones genómicas y QTLs determinantes de los mismos.
- ii) Existen QTLs para ciertos rasgos arquitecturales asociados a la tolerancia a alta densidad de plantas que se co-localizan en una misma región genómica.

Para poner a prueba estas hipótesis los objetivos del capítulo fueron:

- i) Caracterizar fenotípicamente una población de líneas recombinantes de maíz (RILs) para los rasgos arquitecturales de planta sensibles al incremento de la densidad de plantas.
- ii) Determinar la distribución poblacional de cada rasgo analizado en i, su variabilidad genética, las correlaciones entre ellas y la heredabilidad con el fin de establecer si estos rasgos son candidatos a tenerse en cuenta en el proceso de selección dentro de un programa de mejoramiento para el desarrollo de genotipos tolerantes a AD.

- iii) Estudiar regiones genómicas involucradas en la determinación de estos caracteres así como los efectos (QTLs) en densidades de plantas contrastantes.

## **4.2. Materiales y Métodos**

### **4.2.1. Material Vegetal**

Se utilizaron 2 líneas parentales públicas (B73 y Mo17) y 160 líneas provenientes de la población de RILs IBM (B73×Mo17) Syn4. Esta población fue desarrollada con la finalidad de incrementar la resolución para el mapeo de QTLs. Para ello, a partir de la F<sub>2</sub> obtenida de la cruce entre las líneas parentales B73×Mo17, se realizaron cuatro generaciones de libre cruzamiento. Luego, se derivó un conjunto de RILs mediante ocho generaciones de autofecundación (Lee *et al.*, 2002). Mayores detalles de las líneas recombinantes IBM (B73×Mo17) Syn4 pueden encontrarse en la página web del GRIN ([www.ars-grin.gov](http://www.ars-grin.gov)). Las líneas parentales son conocidas por ser relevantes en la constitución del germoplasma dentado comercial actual (Mikel y Dudley, 2006) y en relación al presente trabajo por diferir en su arquitectura de planta (Mickelson *et al.*, 2002). Adicionalmente, B73 se encuentra altamente relacionada a muchas líneas endocriadas derivadas recientemente, es el parental común de la Nested Association Mapping Population (McMullen *et al.*, 2009), y ha sido utilizada en numerosos estudios genéticos, moleculares y genómicos (Yu *et al.*, 2008; Schnable *et al.*, 2009). La población cuenta con datos genotípicos de más de 1800 marcadores moleculares, lo que asegura una muy buena cobertura del genoma.

### **4.2.2. Ensayos a campo y diseño experimental**

Los ensayos a campo se condujeron sin limitaciones hídrico-nutricionales, manteniendo a los cultivos libres de plagas, malezas y enfermedades usando métodos mecánicos y químicos. Los ensayos se llevaron a cabo durante las campañas 2013-2014 y 2014-2015 en el campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Lomas de Zamora (34°49 S, 58°43 W), sobre un suelo argiudol típico, y en el predio de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (34°35 S, 58°29 O) sobre un suelo argiudol vértico; respectivamente. En cada ensayo, los 162 genotipos se evaluaron siguiendo un diseño experimental de parcelas divididas con dos densidades de plantas contrastantes (5 y 10 pl m<sup>2</sup>; BD y AD respectivamente) y tres repeticiones. La densidad de plantas fue asignada a la parcela principal mientras que los genotipos fueron asignados a las sub-parcelas según un arreglo de bloques completos aleatorizados. Cada sub-parcela estuvo constituida por hileras de cultivo de 3 m de largo distanciadas a 0.5 m.

### **4.2.3. Mediciones fenotípicas**

La población de RILs y sus líneas parentales fueron fenotipadas, una vez transcurrida la floración femenina, seleccionando dentro de cada sub-parcela 4 plantas en competencia perfecta. Sobre estas se realizaron las mediciones de la arquitectura de las hojas del estrato comprendido entre la segunda hoja por encima y por debajo de la hoja de la espiga apical, debido a que estas hojas presentan la mayor sensibilidad al cambio en la densidad de plantas (Maddonni *et al.*, 2001b) y agrupan hojas del estrato medio e inferior del capítulo anterior. Para la determinación de la orientación de las hojas en el plano horizontal (AZ), se utilizó un transportador de 180°, posicionando la línea 0-180° sobre la hilera de las plantas y el centro del transportador en el tallo de cada planta debajo de cada hoja a medir. El AZ se registró a partir del ángulo formado por la orientación de la parte media de la nervadura central de las hojas. La punta de la hoja no

fue tomada en cuenta debido a que puede existir torsión y/o desplazamiento de la parte distal de la lámina foliar. De esta manera, valores de AZ cercanos a 90° indican hojas perpendiculares a la hilera y aquellos cercanos a 0° o 180° indican hojas dispuestas en forma paralela a la hilera. Para expresar los valores correspondientes al AZ de las hojas de un genotipo en cada combinación de experimento × densidad × repetición, se utilizó el promedio de los desvíos absolutos de cada medición de AZ respecto a 90°. De esta manera los promedios de los desvíos cercanos a 0° indican genotipos con hojas preferentemente perpendiculares a la hilera de siembra, mientras que aquellos con desvíos cercanos a 90° indican genotipos con hojas preferentemente paralelas a la hilera de siembra. También se registró para el mismo estrato de hojas el AV, el AH, el LMH y el LQH y luego de floración se registró la AP, la AE y el DT como fue descrito en el Capítulo 3. El AF individual, el VOH y la AE/AP fueron calculados como se detalló también en el Capítulo 3.

#### 4.2.4. Análisis fenotípicos

La varianza fenotípica fue particionada en los componentes de varianza genotípica y ambiental usando un modelo mixto. El modelo incluyó ambientes (*i.e.*, experimentos), bloques anidados dentro de los ambientes, las densidades, los genotipos y las interacciones entre genotipo × densidad, genotipo × ambiente y genotipo × densidad × ambiente. Todos los factores del modelo fueron considerados aleatorios con excepción de la densidad que se consideró como un efecto fijo. Previo al análisis, se evaluó la distribución fenotípica de los rasgos y se transformó aquel que no se ajustó a una distribución normal. Este fue el caso del AV que fue transformado usando la potencia al cuadrado ( $X^2$ ). Para analizar los componentes de la varianza fenotípica se utilizó Proc MIXED usando REML del paquete estadístico de SAS (SAS Institute Inc, 2009).

Se calculó la heredabilidad de cada rasgo para el conjunto completo de datos y posteriormente para cada densidad en cada experimento, en base a la media de las sub-parcelas siguiendo un diseño en bloques completos aleatorizados (Eq. 2 y 3).

$$h^2 = \frac{\sigma_G^2}{[\sigma_G^2 + (\sigma_{G \times d}^2/d) + (\sigma_{G \times a}^2/a) + (\sigma_{G \times d \times a}^2/da) + (\sigma_e^2/rda)]} \quad [2]$$

$$h^2 = \frac{\sigma_G^2}{[\sigma_G^2 + (\sigma_e^2/r)]} \quad [3]$$

donde  $\sigma_G^2$  es la varianza genética,  $\sigma_{G \times d}^2$  es la varianza de la interacción genotipo × densidad,  $\sigma_{G \times a}^2$  es la varianza de la interacción genotipo × ambiente,  $\sigma_{G \times d \times a}^2$  es la varianza de la interacción genotipo × densidad × ambiente,  $\sigma_e^2$  es la varianza residual y d, a y r son el número de densidades, ambientes y repeticiones, respectivamente (Hallauer y Miranda Filho, 1988).

Se realizaron gráficos de caja para presentar las variaciones poblacionales de cada rasgo y se exploraron las relaciones lineales entre los mismos, utilizando el programa GraphPad Prism (GraphPad Prism version 6.00 para Windows).

Se utilizó un modelo MCMA para analizar la información fenotípica, siguiendo la metodología propuesta por otros autores (Malosetti *et al.*, 2008; Alvarez Prado *et al.*, 2013; Amelong *et al.*, 2015), asumiendo a los genotipos como aleatorios. Los efectos genéticos fueron asumidos como normalmente distribuidos con una estructura de varianza-covarianza. La elección de la mejor estructura de varianza-covarianza para el conjunto de datos fue basado sobre el criterio de información bayesiano (BIC de su sigla en inglés) seleccionándose la estructura de simetría compuesta. Para cada genotipo se estimó el mejor predictor lineal insesgado de las medias fenotípicas (BLUP, de su sigla

en inglés). Las estimaciones fueron calculadas usando Proc MIXED (SAS Institute Inc, 2009).

#### 4.2.5. Construcción del mapa genético y análisis de QTLs

La información de los marcadores moleculares utilizada para construir el mapa de ligamiento fue obtenida del sitio web Maize GDB (<http://www.maizegdb.org>). Se realizó un test de chi-cuadrado, previo al análisis de ligamiento, para verificar la distribución alélica de cada marcador (Kearsey *et al.*, 1996). De este modo, los marcadores que mostraron una segregación distorsiva fueron descartados del análisis y el mapa se construyó finalmente con 1158 marcadores (*i.e.*, 64% del total) de ADN del mapa consenso de la población IBM (B73×Mo17) Syn4. Para llevar a cabo el análisis de ligamiento, se utilizó el software genético MapDisto V1.7 (Lorieux, 2007), utilizando la función de mapeo de Kosambi (Kosambi, 1943) para estimar las distancias genéticas.

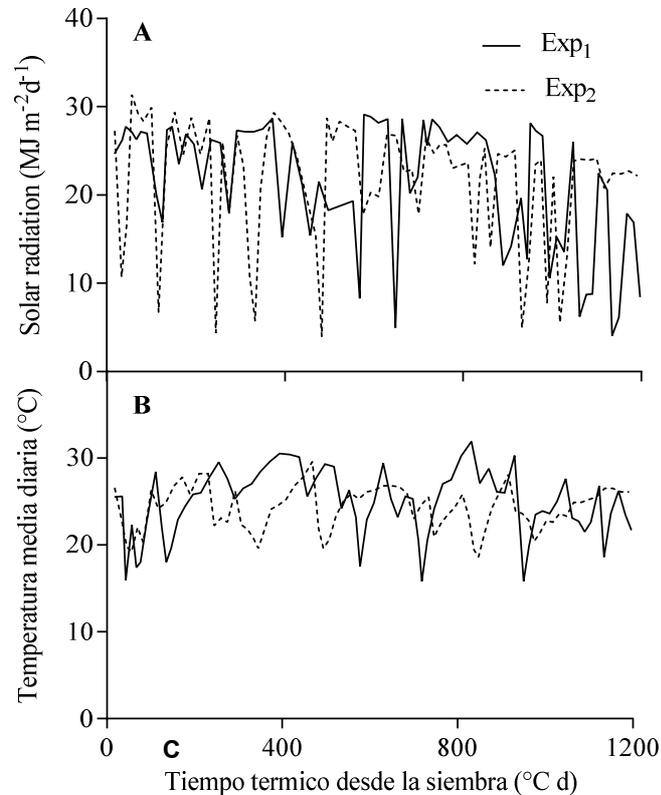
Para el análisis de QTLs se utilizaron los BLUPs obtenidos del modelo mixto. El mapeo se realizó con el software WinQTLCartographer V2.5 (Wang *et al.*, 2011a). El procedimiento MC/MA, que utiliza mapeo por intervalos compuestos, se seleccionó para llevar a cabo el proceso. Dentro de este análisis, se empleó el modelo 6 que selecciona QTLs putativos para ser utilizados como cofactores mediante una regresión hacia adelante y hacia atrás (forward y backward). Para ello, se estableció un umbral de 0.05 para el ingreso y el egreso. El genoma fue escaneado cada 2 cM utilizando una ventana de 10 cM para excluir los marcadores (cofactores) que rodean al intervalo escaneado. Cuando se realiza un análisis de QTLs, se desea conocer la probabilidad de arribar a conclusiones erróneas. Estas pueden ser a) porque hay un QTL segregando cuando en realidad no lo hay, o b) por no detectar un QTL que está realmente presente. El primer tipo de error resulta en un falso positivo (tipo I) mientras que el segundo, en un falso negativo (tipo II). La probabilidad de falsos positivos, *i.e.*, el nivel de significancia; es controlada seleccionando un apropiado umbral de significancia. Para declarar la presencia significativa de un QTL se utiliza el umbral del logaritmo de *odds* (LOD). Su valor depende de la población de mapeo que se utilice, del largo promedio de los cromosomas y del número de marcadores utilizados durante el análisis. Para este análisis se fijó un LOD = 3, ya que para un largo promedio de cromosoma de 250 cM en un familia de RILs (similar a los datos de este estudio), este valor generaría menos de un 2% de falsos positivos (Van Ooijen, 1999). Por esta razón, valores de LOD mayores a 3 entre las variantes de los marcadores genéticos y la varianza fenotípica, son frecuentemente indicativos de un QTL o región del genoma implicada en la expresión del fenotipo. La variación fenotípica y los efectos aditivos explicados por cada QTL fueron estimados a partir de los valores fenotípicos de los picos de los QTLs obtenidos por el análisis. Para investigar la superposición genética (co-localización) entre los rasgos estudiados a través de las diferentes combinaciones densidad × ambiente, se compararon los intervalos de 1 LOD para cada QTL detectado (Li *et al.*, 2016; Raihan *et al.*, 2016).

### 4.3 Resultados

#### 4.3.1. Descripción de las condiciones ambientales durante los experimentos

La radiación solar incidente promedio de la estación de crecimiento del Exp<sub>1</sub> fue ligeramente (5.5%) superior a la del Exp<sub>2</sub> (Fig. 4.1A). Similarmente, la temperatura media del aire durante el Exp<sub>1</sub> (24.8°C) fue levemente mayor que la del Exp<sub>2</sub> (24.2°C) (Fig. 4.1B), magnificándose estas diferencias durante el período de desarrollo del AF (*ca.* desde 250 a 800 °C d desde la siembra). Estas condiciones sumadas a las

diferencias del tipo de suelo, definieron dos ambientes diferentes (Amb<sub>1</sub> y Amb<sub>2</sub> para el primer y segundo experimento; respectivamente) para el crecimiento vegetativo de las plantas (ver punto 4.3.2).



**Figura 4.1.** Radiación solar incidente (A) y temperatura media del aire (B) durante dos estaciones de crecimiento de los cultivos (líneas continuas: Exp<sub>1</sub>, líneas discontinuas: Exp<sub>2</sub>). El tiempo desde la siembra es expresado en unidades de tiempo térmico con una temperatura base de 8°C.

#### 4.3.2 Variabilidad fenotípica

Para la mayoría de los rasgos, la contribución a la varianza total de la varianza de la interacción genotipo  $\times$  ambiente, fue la de mayor peso entre todas las varianzas de las interacciones.

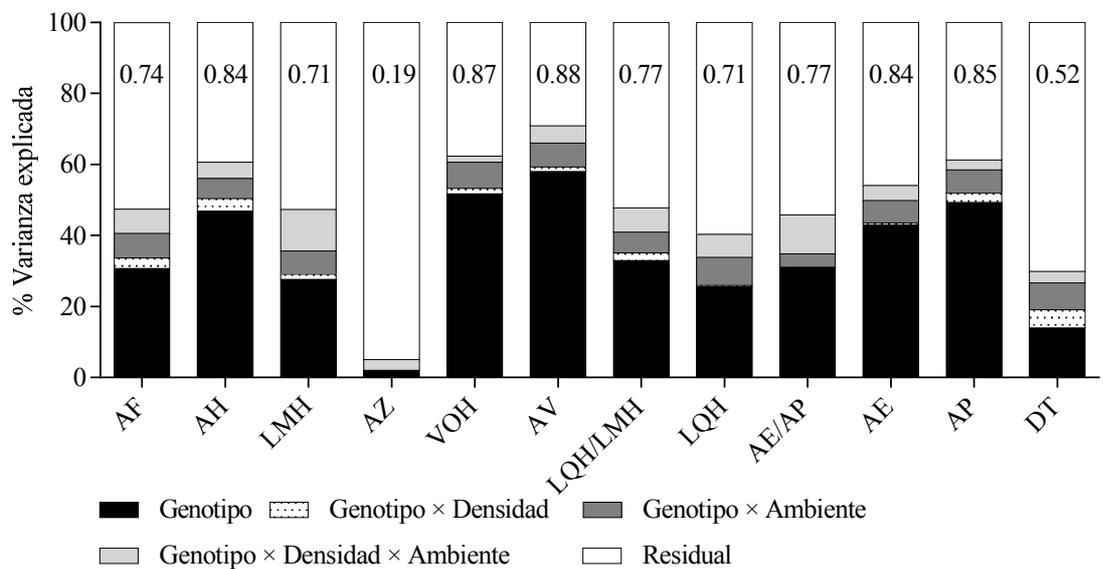
Los valores de AF, sus dimensiones y AZ mostraron una distribución continua alrededor de la media y una segregación transgresiva, *i.e.*, RILs que excedieron a los valores de las líneas parentales para estos rasgos (Fig. 4.3A-D). Los valores de estos rasgos para B73 en ambas densidades del Amb<sub>1</sub> y en AD del Amb<sub>2</sub> resultaron menores que los de Mo17.

Para el conjunto de datos (*i.e.*, dos ambientes y dos densidades) los valores de AF, AH, LMH y AZ de las RILs variaron entre 101.8- 660.5 cm<sup>2</sup>, 3.44-11.7 cm, 34.06-82.38 cm y 5-85.5°; respectivamente.

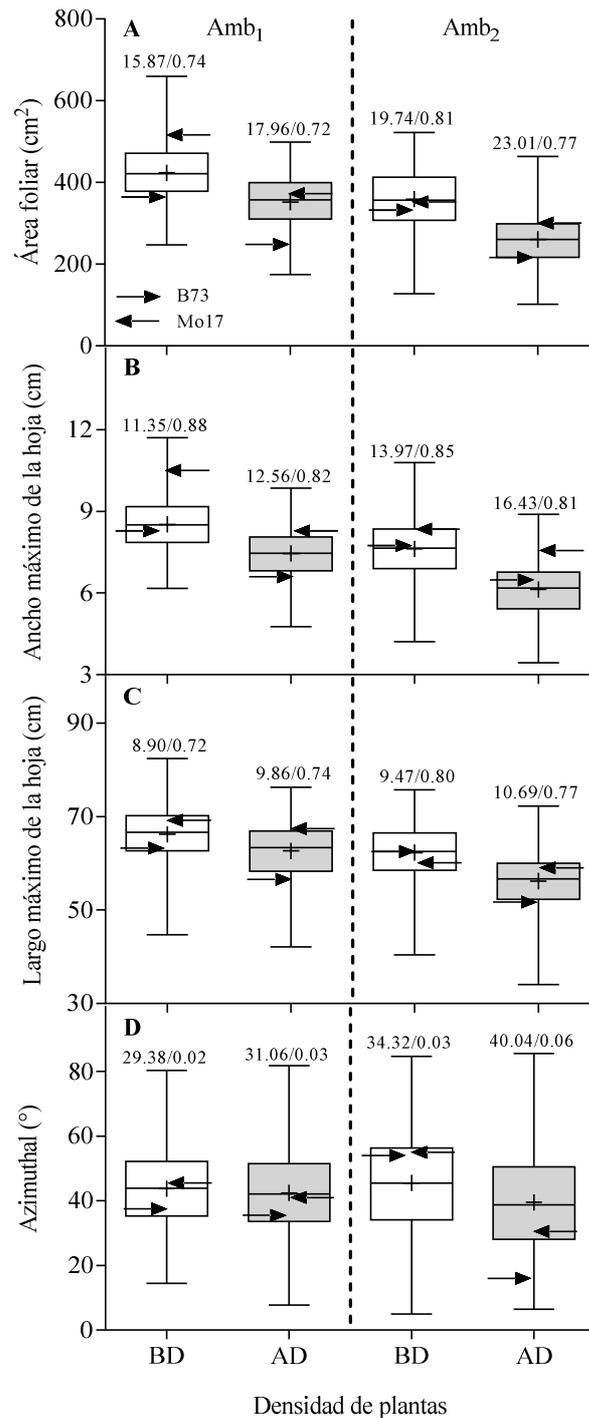
Adicionalmente y con excepción de AZ, que no presentó cambios mayores entre ambientes y densidades, la AD en ambos ambientes generó valores menores en la media de los rasgos, mayores CV y menores valores de h<sup>2</sup>. Las variaciones en el AF de todo el conjunto de datos, estuvieron positiva y mayormente asociadas a los cambios del AH ( $r^2 = 0.9$ ,  $p < 0.0001$ ; Fig. 4.6.A).

Los valores de VOH, LQH/LMH y LQH también presentaron una distribución normal y segregación transgresiva, con excepción del AV que presentó una asimetría

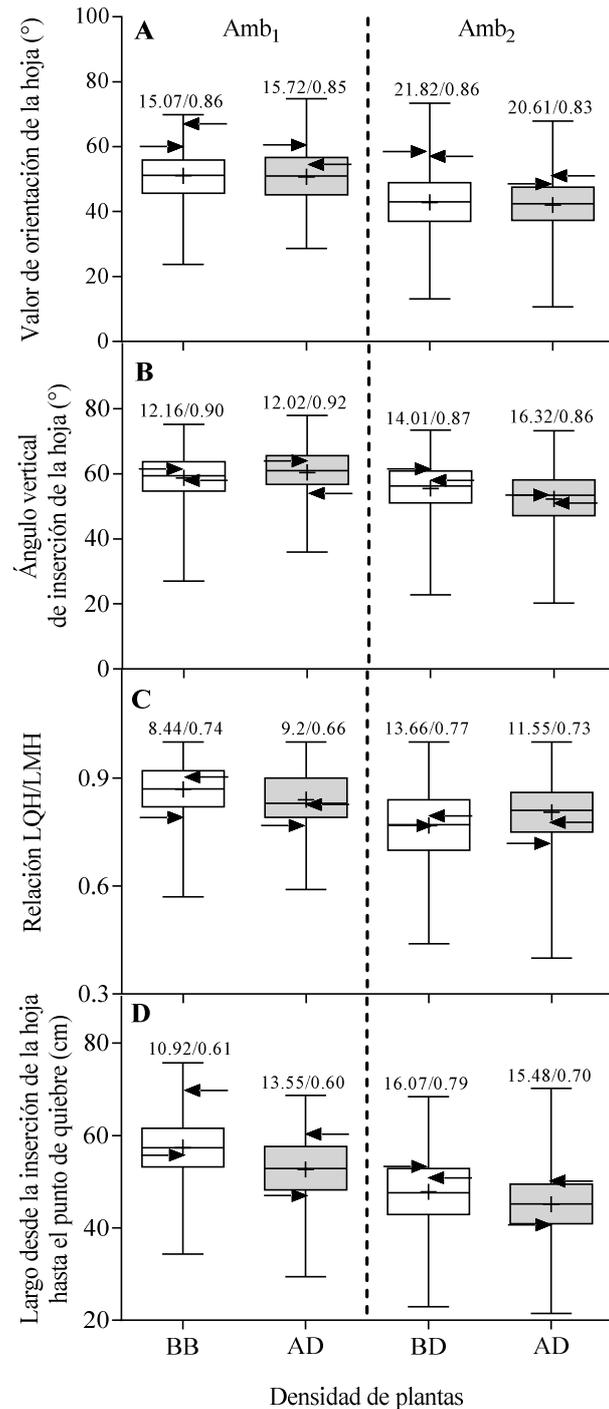
negativa (*i.e.*, mayor frecuencia de valores bajos de AV) (Fig. 4.4A-D). Para el conjunto de datos VOH varió entre 10.65-74.76°, los de AV entre 20.25-78°, la relación LQH/LMH entre 0.4-1 y el LQH entre 21.5-75.66 cm. El parental B73 presentó en promedio un valor menor de VOH, AV y LQH/LMH que Mo17. La AD no generó cambios de elevada magnitud en los CV de estos rasgos dentro de cada ambiente mientras que los CV en el Amb<sub>2</sub> resultaron superiores a los del Amb<sub>1</sub> (Fig. 4.4A-D). Sobre la  $h^2$  de estos rasgos, la densidad y los ambientes no produjeron grandes cambios. Considerando todo el conjunto de datos, 77% de la variación observada en el VOH fue explicada por cambios en los valores de AV mientras que un 54 y 47% fueron explicadas por LQH/LMH y LQH; respectivamente (Fig. 4.6C. D. E). Asimismo, las variaciones en la relación LQH/LMH estuvieron mayormente asociadas a las variaciones en el LQH ( $r^2 = 0.59$ ,  $p < 0.0001$ ; Fig. 4.6F).



**Figura 4.2.** Porcentaje de la varianza total (áreas) explicada por la varianza del genotipo, las interacciones y la varianza residual, y valores de heredabilidad (valores superiores) para el área foliar (AF), ancho máximo de la hoja (AH), largo máximo de la hoja (LMH), orientación azimutal (AZ), valor de orientación de la hoja (VOH), relación entre el largo desde la inserción de la hoja al punto de quiebre (LQH) y LMH (LQH /LMH), LQH, ángulo vertical de inserción de la hoja (AV), relación entre la altura de la planta (AP) y la altura a la inserción de la espiga (AE) (AE/AP), AE, AP y diámetro promedio de la base del tallo (DT) de las líneas parentales (B73 y Mo17) y de 160 RILs de la población IBM Syn4, cultivadas en dos ambientes diferentes a baja y alta densidad de plantas.



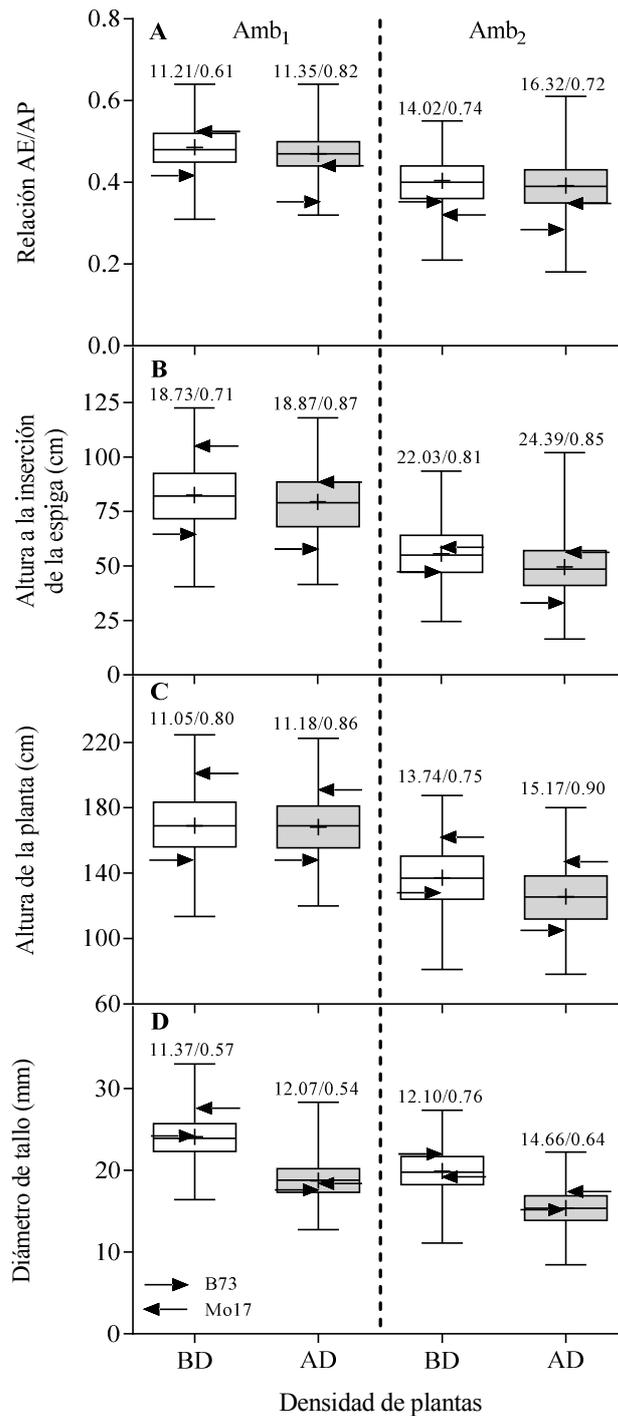
**Figura 4.3.** Gráfico de caja del área foliar (A), ancho máximo de la hoja (B), largo máximo de la hoja (C) y orientación azimutal (D) para las líneas parentales (B73 y Mo17) y 160 RILs de la población IBM Syn4 cultivadas en dos ambientes diferentes (Amb<sub>1</sub> y Amb<sub>2</sub>) a baja (BD) y alta densidad de plantas (AD). Cada caja representa el cuartil por encima y por debajo de la mediana de las RILs. El símbolo + indica el valor medio de cada carácter y los bigotes describen el mínimo y el máximo valor registrado para las RILs. Las flechas fueron usadas para señalar el valor medio de cada carácter para cada línea parental. Los números sobre cada gráfico separados por una barra indican el CV y la h<sup>2</sup>.



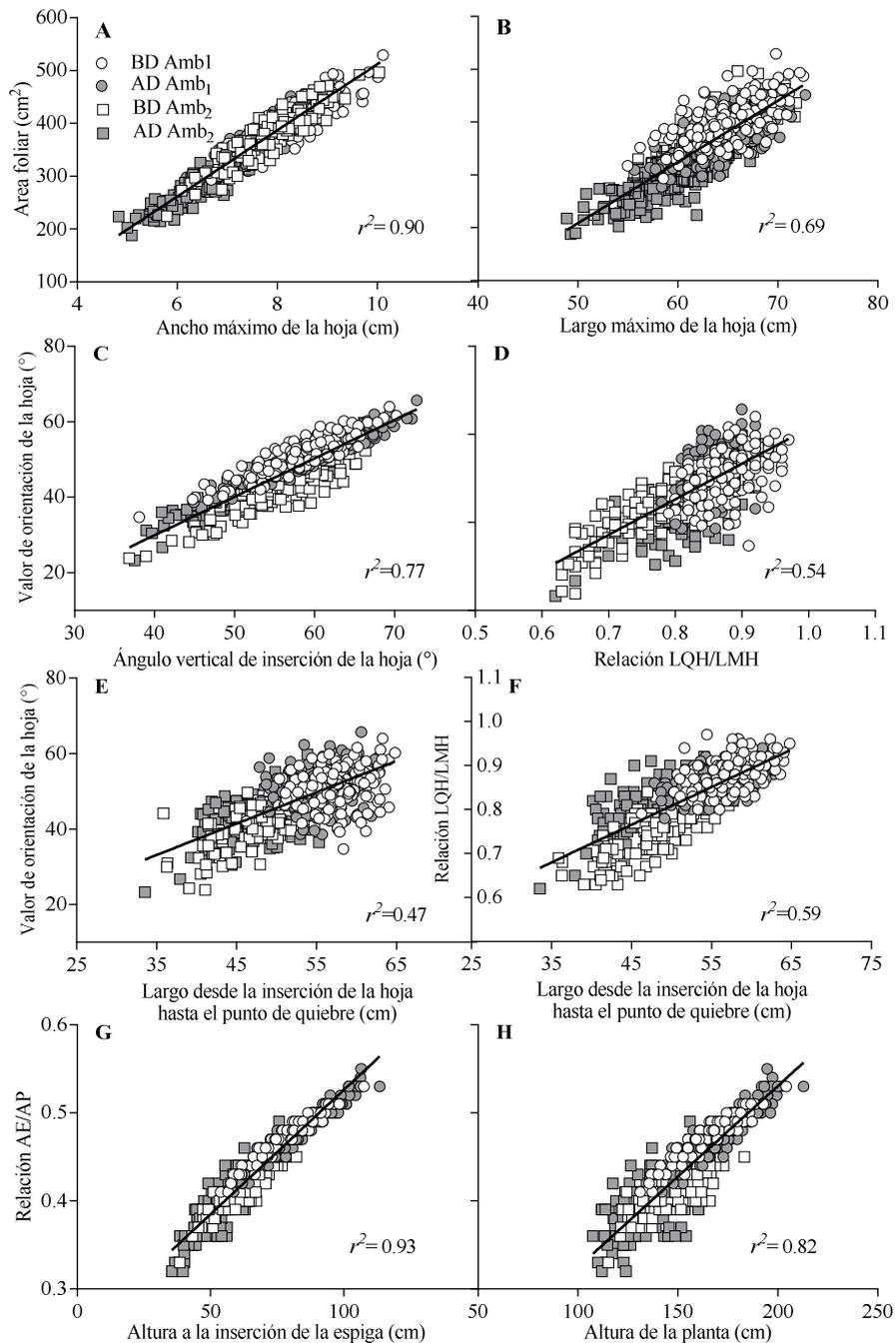
**Figura 4.4.** Gráfico de caja del valor de orientación de la hoja (A), ángulo vertical de inserción de la hoja (B), relación entre el largo al quiebre de las hojas y el largo máximo de las hojas (C) y largo al quiebre de las hojas (D) para las líneas parentales (B73 y Mo17) y 160 RILs de la población IBM Syn4 cultivadas en dos ambientes diferentes (Amb<sub>1</sub> y Amb<sub>2</sub>) a baja (BD) y alta densidad de plantas (AD). Cada caja representa el cuartil por encima y por debajo de la mediana of RILs. El símbolo + indica el valor medio de cada carácter y los bigotes describen el mínimo y el máximo valor registrado para las RILs. Las flechas fueron usadas para señalar el valor medio de cada carácter para cada línea parental. Los números sobre cada gráfico separados por una barra indican el CV y la  $h^2$ .

Los rasgos que describen la arquitectura del tallo, es decir, AE/AP, AE, AP y DT, presentaron también una distribución normal y segregación transgresiva, *i.e.*, RILs que excedieron a los valores de los parentales (Fig. 4.5A-D). Entre las líneas parentales, B73 presentó los menores valores para la mayoría de los rasgos en casi todas las combinaciones D  $\times$  Amb. La AD generó principalmente una disminución del DT del 22% en promedio mientras que en el Amb<sub>2</sub> se registró en promedio, no sólo menores valores medios de estos rasgos sino también un aumento considerable del CV del orden del 34.4, 23.4, 30.1 y 14.2% para AE/AP, AE, AP y DT, respectivamente. Los valores de  $h^2$ , no siguieron el mismo comportamiento y presentaron diferentes valores, según la combinación D  $\times$  Amb, desde intermedios (0.54 para DT en AD del Amb<sub>1</sub>) a altos (0.9 para AP en AD del Amb<sub>2</sub>). Los cambios en la relación AE/AP estuvieron asociados positiva y significativamente tanto a la variaciones en la AE (93%) como en la AP (82%) (Fig. 4.6G. H).

En resumen, para todos los rasgos evaluados que determinan la arquitectura de las hojas y del tallo de la planta de maíz, las diferencias dentro de la población de RILs según el ambiente y la densidad, crearon una amplia variabilidad fenotípica que posibilita la detección de QTLs.



**Figura 4.5.** Gráfico de caja del valor de la relación entre la altura a la inserción de la espiga y la altura de la planta (A), altura a la inserción de la espiga (B), altura de la planta (C) y diámetro del tallo (D) para las líneas parentales (B73 y Mo17) y 160 RILs de la población IBM Syn4 cultivadas en dos ambientes diferentes (Amb<sub>1</sub> y Amb<sub>2</sub>) a baja (BD) y alta densidad de plantas (AD). Cada caja representa el cuartil por encima y por debajo de la mediana of RILs. El símbolo + indica el valor medio de cada carácter y los bigotes describen el mínimo y el máximo valor registrado para las RILs. Las flechas fueron usadas para señalar el valor medio de cada carácter para cada línea parental. Los números sobre cada gráfico separados por una barra indican el CV y la h<sup>2</sup>.



**Figura 4.6.** Relaciones entre el mejor predictor lineal inesgado (BLUP) entre: área foliar y ancho máximo de la hoja (A), área foliar y largo máximo de la hoja (B), valor de orientación de la hoja y ángulo vertical de inserción de la hoja (C), valor de orientación de la hoja y relación largo al quiebre sobre largo total de la hoja (D), valor de orientación de la hoja y largo al quiebre de la hoja (E), relación largo al quiebre sobre largo total de la hoja y largo al quiebre de la hoja (F), relación altura de inserción de la espiga sobre altura total de planta y altura a la inserción de la espiga (G) y relación altura de inserción de la espiga sobre altura total de planta y altura total de la planta (H) para 160 RILs de la población IBM Syn4 cultivadas en dos ambientes diferentes (círculos: Amb<sub>1</sub> y cuadrados: Amb<sub>2</sub>) a baja (símbolos vacíos) y alta densidad de plantas (símbolos llenos). La línea representa la función lineal fijada para el conjunto de datos de las RILs.

### 4.3.3. Mapeo de QTLs

EL mapeo de QTLs utilizando los BLUPs provenientes del modelo MCMA, permitió detectar un total de 49 QTLs sobre los cromosomas 1, 3, 4, 5, 9 y 10 (Fig. 4.7) que no presentaron interacciones epistáticas. La mayoría de los QTLs detectados no mostraron efectos estables a través de las combinaciones  $D \times \text{Amb}$ . En la Figura 4.7 se describe la magnitud del efecto aditivo del alelo proveniente de B73 para cada combinación  $D \times \text{Amb}$ .

Los QTLs de AF y sus componentes (LMH y AH) se detectaron principalmente bajo condiciones de alta potencialidad (BD del  $\text{Amb}_1$ ), donde la presencia del alelo de B73 disminuyó estas variables en el 78% de los casos. Dos QTLs estuvieron relacionados con las variaciones fenotípicas de AF, 5 con las de LMH y 1 con las de AH.

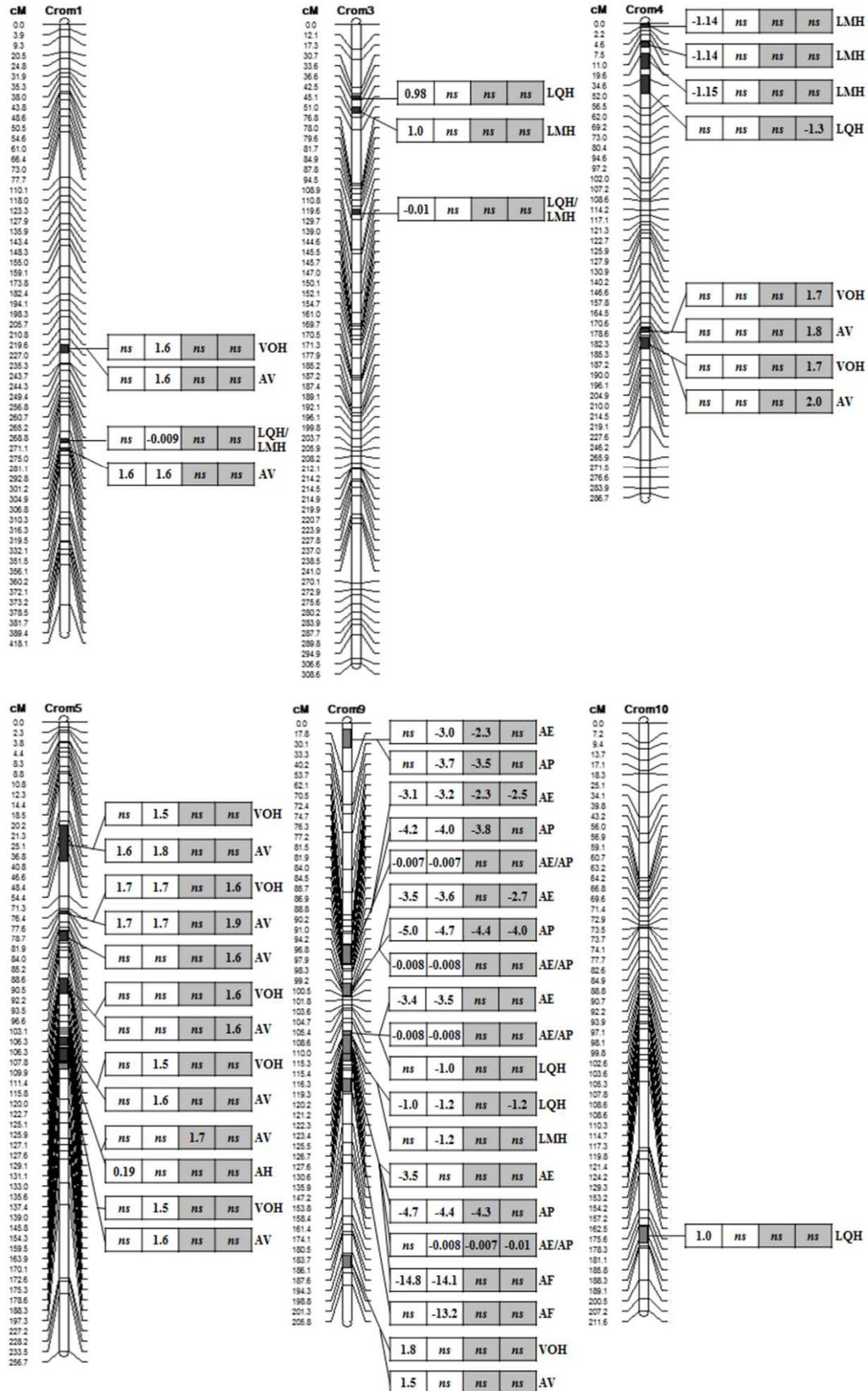
Nueve QTLs se relacionaron con la variación en VOH, 12 con la de AV, 2 con la de LQH/LMH y 5 con la de LQH. Ocho de los 9 QTLs asociados a VOH fueron detectados sólo en una condición (combinación  $D \times \text{Amb}$ ). Para la condición de AD del  $\text{Amb}_1$ , los QTLs de VOH detectados se ubicaron a los 232.41 cM del cromosoma 1 y a los 48.14, 78.11, 131.11 y 137.51 cM del cromosoma 5. Los QTLs de VOH detectados en AD del  $\text{Amb}_2$ , se ubicaron a los 187.41 y 193.51 cM del cromosoma 4 y a los 108.81 cM del cromosoma 5, mientras que el único QTL de VOH en BD se detectó en el  $\text{Amb}_1$  a los 196.21 cM del cromosoma 9. Para AV, 9 de 12 QTLs se presentaron sólo en una condición. Los QTLs de AV detectados en AD del  $\text{Amb}_1$  se ubicaron a los 232.41 cM del cromosoma 1 y a los 131.11 y 137.51 cM del cromosoma 5. Los QTLs de AV detectados en AD del  $\text{Amb}_2$ , se ubicaron a los 187.41 y 193.51 cM del cromosoma 4 y a los 87.51, 108.81 cM del cromosoma 5. En BD del  $\text{Amb}_1$ , el QTL de AV detectado se ubicó a los 196.21 cM del cromosoma 9 mientras que el detectado para la misma densidad para el  $\text{Amb}_2$  se ubicó a los 135.51 cM del cromosoma 5. El alelo de B73 fue el que aumentó el valor de ambas variables (VOH y AV). Los QTLs para LQH/LMH y LQH fueron hallados en su mayoría con los datos del  $\text{Amb}_1$  mientras que para AE/AP sólo 1 de los QTLs, ubicado a los 122.15 cM del cromosoma 9; se expresó en una de las condiciones (AD del  $\text{Amb}_2$ ).

Se hallaron efectos consistentes (al menos tres de 4 condiciones) para un QTL de VOH que co-localizó con uno de AV a los 78.11 cM del cromosoma 5. Los mismos presentaron una magnitud estable de los efectos (*ca.*  $1.7^\circ$ ) y explicaron en promedio un 11% (datos no mostrados) de la variación fenotípica para estos caracteres.

Sobre el cromosoma 9, a los 119.21 cM se detectó un QTL para LQH de efecto consistente en 3 de las 4 condiciones ambientales, con un efecto aditivo similar a través de las  $D \times \text{Amb}$  que promedió -1.15 cm y explicó *ca.* 10% de su variación. Sobre el cromosoma 4, a los 37.51 cM se halló un QTL para LQH que explicó 9% de su variabilidad en la condición de AD en el  $\text{Amb}_2$  (ambiente más limitante). Además, a los 187.41 y 193.51 cM del mismo cromosoma, co-localizaron QTLs para VOH y AV que sólo se detectaron en la mencionada condición. Éstos tuvieron efectos de magnitud similar ( $1.8^\circ$ ) y explicaron en promedio *ca.* 10.5% de la variación fenotípica de estos rasgos.

En las posiciones 84.11 y 98.04 cM, co-localizaron QTLs para AE/AP, AE y AP de efecto estable para la mayoría de las condiciones donde el alelo de B73 disminuyó la media de estos rasgos. La magnitud de estos QTLs fue similar salvo para BD en el  $\text{Amb}_2$  donde mostró los menores valores. La variación fenotípica explicada por los QTLs de AE/AP, AE y AP, fue cercana al 9.4%. Finalmente, a los 122.15 cM un QTL estable para AP y para la relación AE/AP, co-localizó con uno para AF de efecto consistente en dos condiciones (BD y AD del  $\text{Amb}_1$ ), explicando en promedio 9.6, 9.8 y 12 % de la variación fenotípica para AE/AP, AP y AF, respectivamente. Además, en la

condición en la que la aparición de los QTLs coinciden (AD en el Amb<sub>1</sub>), AP explicó casi un 40% de la variación fenotípica en AF (datos no mostrados).



**Figura 4.7.** Mapeo de QTLs detectados para Área foliar (AF), ancho máximo de la hoja (AH), largo máximo de la hoja (LMH), largo al quiebre de la hoja (LQH), ángulo vertical de inserción de la hoja (AV), LQH /LMH, valor promedio de orientación de la hoja (VOH), altura de la planta (AP), altura a la inserción de la espiga (AE), AE/AP y diámetro promedio de la base del tallo (DT) para 160 RILs de la población IBM Syn4 cultivadas en dos ambientes diferentes (Amb<sub>1</sub> y Amb<sub>2</sub>) a baja (BD) y alta densidad de plantas (AD). Los QTLs están presentados en barras con un conector que indica la posición en el cromosoma (Crom) que fueron detectados. Dentro de los bloques de cada barra se transcribe el efecto aditivo del alelo en cada combinación D × Amb (Bloques blancos: Amb<sub>1</sub>. Bloques grises: Amb<sub>2</sub> y dentro de cada color, el bloque de la izquierda: BD y el de la derecha: AD). Los efectos aditivos corresponden a la presencia del alelo B73.

#### 4.4. Discusión

##### 4.4.1. Variabilidad fenotípica de los rasgos arquitecturales de planta en una población de RILs IBM (B73×Mo17) Syn4 ante el incremento en la densidad de plantas

La mayoría de los rasgos arquitecturales evaluados en las RILs, presentaron un elevado porcentaje de la varianza total explicada por el componente de la interacción Gen × D × Amb, indicando que las respuestas de estos rasgos a la densidad, variaron según las condiciones ambientales exploradas en los Amb<sub>1</sub> y Amb<sub>2</sub>. Por ejemplo, ante el incremento en la densidad, el AF y sus componentes disminuyeron en ambos ambientes. Sin embargo, estos rasgos resultaron más sensibles en el Amb<sub>2</sub> que en el Amb<sub>1</sub>, indicando que ante el incremento de la densidad, la menor calidad del Amb<sub>2</sub> generó una mayor intensidad de competencia intra-específica por recursos, comprometiendo el crecimiento de los órganos vegetativos. Efectos similares del incremento de la densidad de plantas en el cultivo de maíz sobre el AF y sus componentes fueron registrados previamente por varios autores (Maddonni *et al.*, 2001b; Sangoi *et al.*, 2002; Mansfield y Mumm, 2014; Ku *et al.*, 2016; Song *et al.*, 2016). Dentro de los componentes del AF, el AH resultó más sensible a la densidad que el LMH, respuesta que podría ser explicada por el hecho de que el AH es afectado desde estados ontogénicos muy tempranos (V<sub>6</sub>-V<sub>8</sub>) (Maddonni *et al.*, 2001b). Interesantemente, se encontró una fuerte asociación entre AF y AH, que se mantuvo a través de las combinaciones D × Amb (Fig. 4.6A) independientemente de los cambios en el LMH, tal como se registró para la base de datos de los distintos estratos foliares de los híbridos del Capítulo 3 (Fig. 3.2A, C,E), sugiriendo que el AH resulta un rasgo candidato (fácil, sencillo y rápido de medir) al momento de fenotipificar indirectamente el AF de una población de elevado número de RILs y/o de una base amplia de híbridos.

Además de la importancia que representa el AF como atributo responsable de la captura de luz por las plantas, la capacidad de re-orientación de las hojas en el plano horizontal (AZ) es un mecanismo que permite reducir la interferencia por luz entre los individuos de una misma hilera al incrementarse la densidad de plantas (Maddonni *et al.*, 2002). La variación genética del AZ hallada en la población de RILs no fue lo suficiente grande como para alcanzar valores altos de h<sup>2</sup> para este rasgo. Similarmente, no fue un rasgo muy sensible en los híbridos analizados en el Capítulo 3, sugiriendo que el AZ pudo haberse estabilizado a través de los años de mejoramiento y que de este modo ya no sea un rasgo candidato a ser seleccionado por los mejoradores para generar híbridos más tolerantes a la AD. Sería necesario realizar un análisis retrospectivo más amplio de este rasgo (*i.e.*, incluyendo genotipos más antiguos que los explorados en esta tesis) y explorar otras poblaciones de RILs para poner a prueba esta hipótesis.

Contrariamente a lo descrito para el AF y sus componentes, la densidad no tuvo un efecto consistente a través de los ambientes sobre el VOH y sus rasgos determinantes

(AV, LQH y LMH), ya que en el Amb<sub>1</sub> los mayores valores de AV registrados en AD se compensaron con los menores valores de la relación LQH/LMH, determinado similares VOH entre densidades. Por el contrario en el Amb<sub>2</sub> el VOH también resultó similar entre densidades pero el efecto de la AD sobre el AV y el LQH/LMH resultó contrario al registrado en el Amb<sub>1</sub>. Los cambios leves del AV con la densidad de plantas (menores al 10%), resultan similares a los hallados en híbridos comerciales de maíz (Maddonni *et al.*, 2001b). En híbridos (Gou *et al.*, 2017) y poblaciones de RILs (Ku *et al.*, 2016) se han documentado incrementos del VOH en respuesta al aumento en la densidad de plantas atribuibles a una disposición más erectófila de las hojas (*i.e.*, mayores AV) en el primer caso y a esta misma reacción o al aumento de la relación LQH/LMH según la población evaluada en el segundo caso. Similarmente, el híbrido más nuevo explorado en esta tesis presentó un mayor VOH en los tres estratos (Capítulo 3), principalmente generado por un mayor LQH/LMH. En consecuencia el LQH resulta un rasgo de interés para describir el grado de “compacidad” de un canopeo en AD, especialmente en ambientes favorables para el desarrollo vegetativo. Resulta interesante, el fuerte impacto de la calidad del ambiente sobre los cambios generados en el AF y el AV de las RILs por el aumento en la densidad de plantas. En el Amb<sub>1</sub>, la calidad del ambiente favoreció al desarrollo del AF y el AV se incrementó hacia un hábito más erectófilo ante el aumento en la densidad de plantas, determinando una estructura de planta más compacta. En cambio para el Amb<sub>2</sub> el bajo desarrollo del AF podría haber disminuido la interferencia entre las plantas y la capacidad de respuesta del AV al incremento de la densidad. Estos resultados sugieren la existencia de respuestas a señales no competitivas, reguladas por procesos foto-morfogénicos (calidad de luz; *i.e.*, R/RL) modulados por el desarrollo foliar de las plantas (Ballaré *et al.*, 1997), que de alguna manera limitaría la selección individual de un rasgo como el AV en ambientes de alto desarrollo del canopeo.

Ante el incremento en la densidad de plantas no sólo se generan modificaciones en el crecimiento de las hojas, sino también en el alargamiento de los entrenudos y en el grosor de los tallos de las RILs, debido probablemente a cambios en la partición de foto-asimilados entre los órganos vegetativos en crecimiento (Kebrom y Brutnell, 2007). En el Amb<sub>1</sub>, la AD generó un incremento en la media de AP, AE y AE/AP lo cual coincide con lo informado para algunos de estos rasgos en híbridos de maíz (Maddonni *et al.*, 2001b; Huang *et al.*, 2017), en líneas endocriadas (Gonzalo *et al.*, 2006; Gonzalo *et al.*, 2010; Ku *et al.*, 2015) y en los resultados de los híbridos del Capítulo 3 de esta tesis. En contraste, la relación AE/AP y sus componentes disminuyeron en el Amb<sub>2</sub>. Esta discrepancia puede estar explicada por la distinta intensidad de competencia generada por ambas densidades en los distintos ambientes mencionados anteriormente. Una respuesta de la AP a la densidad de plantas, del tipo parabólica ha sido previamente documentada (Tetio-Kagho y Gardner, 1988; Sangoi *et al.*, 2002; Song *et al.*, 2016; Gou *et al.*, 2017) sugiriendo un aumento de la AP ante aumentos de la densidad como respuesta de las plantas para evitar el sombreo, posiblemente debido a una mayor elongación de los entrenudos, y una disminución luego de un óptimo, asociada a la elevada restricción de recursos que compromete el crecimiento del tallo (Tetio-Kagho y Gardner, 1988). Este tipo de respuesta estaría suprimida en ambientes muy restrictivos como el Amb<sub>2</sub>.

La respuesta del DT al incremento en la densidad de plantas es uno de los factores determinantes del vuelco de las plantas en el cultivo de maíz, y representa una de las principales limitaciones al RG en AD, después de la esterilidad (Argenta *et al.*, 2001; Mansfield y Mumm, 2014). En los experimentos de esta tesis, la AD afectó negativamente al DT de las RILs con una reducción del 17.66% y del 26.39 en el Amb<sub>1</sub>

y Amb<sub>2</sub>; respectivamente. Como se mencionara anteriormente, dicha respuesta pudo deberse al ambiente lumínico enriquecido en RL típico de canopeos densos (Rajcan y Swanton, 2001), que predisponen al quebrado del tallo de maíz antes de alcanzar su madurez fisiológica. Una mayor relación AE/AP podría generar un mayor brazo de palanca, que intensifique el riesgo de quebrado de tallos afinados. Interesantemente la relación AE/AP estuvo estrechamente asociada a la AE, con lo cual este último rasgo junto con el DT serían rasgos candidatos en un proyecto de fenotipificación en busca de mayor tolerancia al quebrado del tallo en AD.

Una gran proporción de la variación fenotípica de los rasgos bajo estudio, fue explicada por las variaciones genotípicas generando altos valores de  $h^2$ . Sin embargo, la AD principalmente en el Amb<sub>2</sub> disminuyó la  $h^2$  de algunos rasgos posiblemente debido a que la mayor intensidad de competencia intra-específica produjo una mayor variabilidad entre plantas dentro de cada genotipo (Vega y Sadras, 2003; Maddonni y Otegui, 2004). La segregación transgresiva bidireccional detectada pudo ser generada por la recombinación entre parentales con QTLs de efectos antagonistas (Rieseberg *et al.*, 2002). Adicionalmente, en las poblaciones existe naturalmente una variación encriptada que puede ser expuesta en cruzamientos a través de la generación de fenotipos transgresivos (Tanksley y McCouch, 1997). Estos fenotipos, pueden generar un papel muy importante en la adaptación y en la especiación (Rieseberg *et al.*, 1999; Welch y Rieseberg, 2002) siendo de esta manera potencialmente utilizables en un programa de mejoramiento.

#### **4.4.2. Detección de QTLs de rasgos arquitecturales de planta y sus cambios ante variaciones en la densidad de plantas y la calidad del ambiente**

El mapeo de QTLs para la identificación de regiones del genoma asociadas a la determinación de rasgos de la arquitectura de la planta de maíz es hasta la fecha muy limitado (Gonzalo *et al.*, 2010; Ku *et al.*, 2015; Ku *et al.*, 2016). En ningún trabajo se aplicó la aproximación MCMA (Malosetti *et al.*, 2008) para generar los BLUPs a utilizar en el análisis de QTLs. La elección de esta metodología confiere la ventaja de modelar adecuadamente la estructura MCMA de las observaciones (Margarido *et al.*, 2015), ya que permite seleccionar la matriz de varianza-covarianza que mejor se ajusta al conjunto de datos. Así, esta metodología constituyó una herramienta más eficiente estadísticamente que la colección de datos simples en un único ambiente y permitió un análisis más realista de los datos, ya que pudo modelarse la interacción  $G \times D \times Amb$  y las correlaciones entre rasgos. Además, permitió asociar a las co-localizaciones de QTLs con efectos consistentes para los diferentes rasgos, como la presencia de correlaciones genéticas entre rasgos, que a su vez están de acuerdo con las relaciones fenotípicas anteriormente mencionadas. Todos estos QTLs podrían ser considerados constitutivos ya que se identifican independientemente de las condiciones ambientales.

En contraste con el trabajo de Gonzalo *et al.* (2010), que utilizó 233 marcadores genéticos para generar la construcción del mapa de ligamiento, en este trabajo se utilizaron 1158 marcadores, lo que aumentó el poder de detección, encontrando QTLs que explicaron hasta 8.4% de la variación fenotípica de ciertos rasgos. Otro aspecto a destacar es la población de mapeo utilizada en este estudio. En los trabajos de Ku *et al.* (2015) y Ku *et al.* (2016) se utilizaron poblaciones de RILs provenientes del cruzamiento entre las líneas Yu82, Zong3 y Yu537A derivadas del grupo heterótico Chinese Stiff Stalk y Yu87-1 y Shen137 derivadas del grupo heterótico non-Stiff Stalk, ambos grupos utilizados ampliamente en China. La población utilizada en esta tesis es derivada del cruzamiento entre las líneas endocriadas B73 y Mo17, que constituyen una referencia en las líneas de mejoramiento de maíz (Troyer, 1999) y son relevantes en la

constitución del germoplasma comercial actual de regiones templadas, ya que un gran número de los genotipos modernos de maíz poseen en el genoma regiones pertenecientes a estas líneas (Mikel y Dudley, 2006). Adicionalmente, la población IBM (B73×Mo17) Syn4 se ha convertido en una población de referencia en diferentes estudios de mapeo (<http://www.maizegdb.org>).

En la población de RILs bajo estudio, se encontraron 2 QTLs para AF en el cromosoma 9 en BD y AD del Amb<sub>2</sub>, pero los QTLs de los componentes de AF no estuvieron concentrados en un cromosoma en particular y aparecieron en su mayoría bajo las condiciones ambientales más favorables (v.g., BD del Amb<sub>1</sub>). Ku *et al.* (2016) también detectaron regiones genómicas asociadas al AF sobre el cromosoma 9 en dos de las cuatro poblaciones que evaluaron. Similarmente, Yang *et al.* (2016), estudiando una población de RILs derivada de B73 (uno de los parentales empleados en esta tesis) en una densidad similar a la BD de esta tesis, detectaron QTLs sobre el cromosoma 9 para el AF de las hojas alrededor de la espiga, pero en diferente posición del cromosoma y con distinta magnitud y dirección del efecto del alelo proveniente de B73. En las RILs de esta tesis, B73 fue la línea que presentó la menor AF, proporcionando entonces el alelo que disminuye AF, mientras que en el estudio de Yang *et al.* (2016), B73 presentó la mayor AF, incrementando la presencia de su alelo el AF en las RILs. Se debe aclarar tanto para éste como para el resto de los rasgos, que las diferencias en la posición de los QTLs también pueden ser generadas por el uso de un número y tipo diferente de marcadores moleculares que pueden hacer variar en mayor o menor medida la longitud del mapa sobre el cual se realiza la detección.

Dentro de los componentes del AF, el QTL detectado para AH sobre el cromosoma 5 se encuentra cercano a un QTL hallado por Tian *et al.* (2011) a los 138 cM y en la misma región donde fue detectado 1 QTL fuerte y estable a través de varios experimentos por Reymond *et al.* (2004). Para LMH, el QTL hallado a los 42.51 cM del cromosoma 3 se encuentra casi en la misma posición que el hallado por Reymond *et al.* (2004) y Tian *et al.* (2011). Adicionalmente, el QTL para LMH localizado a los 119.21 cM del cromosoma 9 coincide con aquellos hallados para la tasa de elongación intrínseca de la hoja por Reymond *et al.* (2004) bajo condiciones de estrés por sequía. Sin embargo, para la población de RILs bajo estudio no se hallaron co-localizaciones entre QTLs para AF y sus componentes, ya que los QTLs detectados en el cromosoma 9 para AF y LMH se localizaron a los 122.15 y 119.21 cM, respectivamente, en una región no comprendida dentro del intervalo de 1 LOD. Por otro lado, los QTLs detectados para LQH y LQH/LMH en esta tesis no han sido hallados por otros autores, por lo que estos resultados permiten sumar regiones implicadas en los rasgos arquitecturales de las hojas de las plantas de maíz y así ampliar el conocimiento sobre sus determinantes genéticas.

Los QTLs para VOH y AV se concentraron principalmente en los cromosomas 4 y 5 y se detectaron principalmente en AD. El número de QTLs para VOH y AV aumentó con el incremento en la densidad en ambos ambientes. Sin embargo, un mayor número de QTLs no se tradujo en mayores valores medios para estos rasgos. Este comportamiento probablemente se produzca porque la mayor variación fenotípica explicada por cada QTL detectado alcanzó un máximo de 12.5% debido a que la menor AF y la mayor relación LQH/LMH (*i.e.*, menor interferencia entre las plantas) en ambientes restrictivos no generó las condiciones/señales para inducir a las hojas a reaccionar hacia AV más erectófilos.

Tal como se encontró para la alta asociación fenotípica entre VOH y AV (Fig. 4.6C), también se halló un alto grado de co-localización entre los QTLs de estos rasgos (10 QTLs detectados para VOH co-localizaron con AV). Solo 2 QTLs individuales fueron

hallados para AV, lo que indicaría que un alto porcentaje del control genético es el mismo para ambos rasgos. Estos QTLs podrían ser considerados adaptativos o AD-específicos ya que su presencia generaría un cambio en la estructura de la planta hacia una estructura más compacta, que mejoraría el comportamiento bajo condiciones de estrés por AD. De todas las co-localizaciones entre VOH y sus componentes, las detectadas en el cromosoma 1 no coinciden con las co-localizaciones o QTLs individuales para VOH y AV detectadas por Ku *et al.* (2010) y Ku *et al.* (2016). Sin embargo, el QTL individual encontrado en esta tesis, para AV a los 306 cM de dicho cromosoma, se localizó a menos de 7 cM de una co-localización para VOH y AV hallada por Li *et al.* (2015). Por otro lado, las co-localizaciones detectadas en el cromosoma 4 para AV, se posicionaron en la misma región que el mQTL4 (*i.e.*, metaQTL ubicado en el cromosoma 4) detectado por Ku *et al.* (2016) que incluye no sólo un QTL para VOH, AV y LQH sino también para RGP, constituyendo de este modo una región interesante a tener en cuenta para el mejoramiento asistido de la arquitectura de la planta simultáneamente con el RG en diferentes condiciones de crecimiento. Adicionalmente, la co-localización de VOH y AV hallada en esta tesis a los 48.14 cM del cromosoma 5 se encuentra a unos 10 cM de aquella detectada por Ku *et al.* (2010). Otra co-localización de estos rasgos a los 78.11 cM coincide con un QTL para AV hallado por Ding *et al.* (2015), mientras que aquella encontrada a los 137.51 cM se detectó en la misma posición que el QTL para VOH hallado por Ku *et al.* (2016). Además de las co-localizaciones entre VOH y AV detectadas sobre el cromosoma 5, el QTL para AV a los 87.51 cM coincide con el detectado por Li *et al.* (2015). Asimismo, la co-localización de VOH y AV detectada a los 196.21 cM del cromosoma 9 se encontró en una posición muy cercana al QTL para VOH detectado por Ku *et al.* (2010). Por otro lado, un gran número de QTLs detectados para AV, no concuerdan con los detectados por otros autores (Ku *et al.*, 2010; Ding *et al.*, 2015; Ku *et al.*, 2016) usando diferentes poblaciones y métodos de detección, como tampoco por los detectados por Mickelson *et al.* (2002) y Wassom (2013) utilizando poblaciones constituidas por B73 y Mo17, con un limitado número de marcadores moleculares y un menor poder de detección de los métodos utilizados por estos autores.

Todos los QTLs para AE/AP y sus componentes fueron hallados en el cromosoma 9 bajo la mayoría de las combinaciones D  $\times$  Amb y principalmente en la región que va desde los 84.11 a los 122.15 cM. El número de QTLs para AE se mantuvo bajo todas las condiciones mientras que para AE/AP y AP la AD generó la detección de un QTL adicional en el Amb<sub>1</sub> mientras que en el Amb<sub>2</sub> se detectarían 3 QTLs menos para AP. La relación AE/AP y sus componentes tuvieron un comportamiento similar a VOH en cuanto a su base genética ya que co-localizaciones de la relación con al menos uno de los componentes sucedieron en un alto porcentaje, coincidiendo asimismo con resultados mostrados por varios autores (Gonzalo *et al.*, 2010; Peiffer *et al.*, 2014; Ku *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016). La mayoría de las regiones implicadas en la determinación de estos rasgos coincidió con las halladas por Gonzalo *et al.* (2010) sobre el cromosoma 9 para AP y AE, que utilizaron una población de mapeo también derivada de la cruce B73 $\times$ Mo17. Asimismo, los QTLs para AE/AP y sus componentes mostraron ser estables a través de los ambientes y densidades, en coincidencia con Gonzalo *et al.* (2010) que sugirieron que la interacción QTL  $\times$  densidad no fue importante sobre los rasgos relacionadas con la AP, demostrando un comportamiento constitutivo de estos rasgos. Sin embargo, Ku *et al.* (2015) sugirieron que la respuesta de la base genética de AE/AP y sus componentes a la densidad depende del fondo genético utilizado, ya que el % de los QTLs D-específicos para AP, fue muy variable dentro de cada una de las 4 poblaciones analizadas.

#### 4.5. Conclusiones

La respuesta al aumento de la densidad de plantas y a los cambios en la calidad del ambiente difirió entre los rasgos arquitecturales evaluados en la población RILs IBM (B73×Mo17) Syn4. El AF y sus componentes resultaron más sensibles que el AZ, VOH y sus componentes. Así, el AF y sus componentes disminuyeron en respuesta al incremento de la densidad independientemente del ambiente considerado, mientras que el VOH sólo aumentó en el ambiente de mayor calidad, como producto del mayor AV. Similarmente, en el ambiente de mayor calidad en AD, se incrementó la relación AE/AP mientras que se redujo en el ambiente de menor calidad. Por el contrario, el DT disminuyó fuertemente con el incremento en la densidad en ambos ambientes.

El estudio genético de los rasgos arquitecturales, permitió detectar 49 QTLs que explicaron individualmente entre un 8.4 y un 12.5% de las variaciones fenotípicas observadas en la población RILs IBM (B73×Mo17) Syn4. De esta manera no se rechaza la primer hipótesis de este capítulo (*Existe variabilidad dentro de la población de RILs IBM (B73×Mo17) Syn4 para los rasgos arquitecturales, que conjuntamente con información de marcadores moleculares, permite detectar regiones genómicas y QTLs determinantes de los mismos*). Se observó, un comportamiento diferencial para los QTLs de los distintos rasgos en respuesta a la densidad. Los QTLs para AF y sus componentes no se concentraron en ningún cromosoma y fueron detectados principalmente bajo las condiciones ambientales más favorables (BD en el ambiente de mejor calidad) mientras que la AD parece no haber generado la variabilidad fenotípica necesaria para detectar algunas de estas regiones. Los QTLs de VOH y AV se concentraron principalmente en los cromosomas 4 y 5. La AD parecería generar cambios en estos rasgos a nivel fenotípico que permitieron detectar regiones adicionales del genoma que no fueron detectadas en BD (*i.e.*, comportamiento adaptativo). Los QTLs para AE/AP y sus componentes, se detectaron sobre el cromosoma 9 en su totalidad y presentaron otro patrón de comportamiento, aumentando su número al incrementarse la densidad en el ambiente de mejor calidad pero disminuyendo ante este mismo cambio en el ambiente de menor calidad. Adicionalmente, la integración de variables en el análisis usando la metodología propuesta por Malosetti *et al.* (2008) permitió no sólo hallar co-localizaciones esperables, como las encontradas para VOH y AV ó AE/AP y sus componentes sino también entre LQH con AE/AP y AE, y entre AF con AE, AP y AE/AP que podrían ser consideradas zonas interesantes para el mejoramiento asistido por marcadores moleculares ya que constituyen rasgos asociados a la generación de biomasa. Estos resultados no permiten rechazar la segunda hipótesis de este capítulo (*Existen QTL para ciertos rasgos arquitecturales asociados a la tolerancia a alta densidad de plantas que se co-localizan en una misma región genómica*).

**Discusión general y consideraciones finales**

### 5.1. Introducción

El RG final de los cultivos de grano es el producto de distintos procesos de crecimiento y desarrollo que ocurren a lo largo del ciclo. Sin embargo, en el cultivo de maíz la determinación del mismo es fuertemente influenciada por el crecimiento de la planta alrededor de  $R_1$  (*i.e.*, período crítico;  $TCP_{PC}$ ). Por lo tanto, eventos que generen una elevada competencia intra-específica, como por ejemplo el incremento en la densidad de plantas, y consecuentemente una disminución de los recursos disponibles por planta durante este período, provocarán caídas fuertes en el RGP a través de una menor fijación de granos (*i.e.*, menor NGP). Varios estudios han cuantificado las variaciones del  $NGE_1$  y  $NGE_2$  de híbridos de maíz antiguos y modernos cultivados en densidades de plantas contrastantes (Tollenaar *et al.*, 1992; Echarte *et al.*, 2000; Sangoi *et al.*, 2002; Echarte *et al.*, 2004). Sin embargo, sólo los rasgos determinantes del  $NGE_1$  de las plantas de un *stand* fueron estudiados considerando la variabilidad poblacional del crecimiento de estas plantas alrededor de floración (Echarte *et al.*, 2004). Esta tesis abordó en el Capítulo 2, el estudio integrado de los determinantes fisiológicos del RGP de cuatro híbridos comerciales de maíz liberados durante las últimas décadas en Argentina, utilizando técnicas no destructivas que permiten caracterizar la variabilidad poblacional de los rasgos determinantes del NGP y asociarlos a los cambios en el  $NGE_1$  y  $NGE_2$  de las mismas. Esta metodología permitió identificar cuáles fueron los rasgos que explicaron en mayor medida cambios en el RGP entre los híbridos más nuevos y más viejos en densidades de plantas contrastantes.

En esta tesis también se evaluaron los efectos del híbrido, la densidad y su interacción sobre los rasgos arquitecturales de las plantas que impactan sobre la captura de radiación de cada una de las plantas de un *stand*. A pesar de que algunos trabajos analizaron los cambios en la morfología de las plantas en híbridos liberados en diferentes décadas (Sangoi *et al.*, 2002; Duvick *et al.*, 2004; Ma *et al.*, 2014), sólo uno de ellos (Ma *et al.*, 2014) describió detalladamente los cambios que sucedieron en los diferentes estratos del canopeo. En consecuencia, resultó importante profundizar los estudios sobre la arquitectura de la planta de maíz, principalmente en canopeos densos (*i.e.*, AD), debido a que la misma determinaría el grado de interferencia por luz entre las plantas del *stand* y en consecuencia sobre la variabilidad poblacional del crecimiento de las plantas. Varios trabajos han intentado relacionar algunos rasgos asociados con la arquitectura de las plantas y el RG y/o sus componentes (Lambert y Johnson, 1978; Ci *et al.*, 2012; Lambert *et al.*, 2014; Ma *et al.*, 2014; Mansfield y Mumm, 2014; Chen *et al.*, 2017). A pesar de que estos trabajos contribuyeron sustancialmente al entendimiento del impacto de la arquitectura de la planta sobre el RG, ninguno de ellos ha disectado el RGP en sus determinantes fisiológicos para analizar si la arquitectura impactó principalmente sobre el crecimiento de las plantas durante el período en el que se define el NG (*i.e.*,  $TCP_{PC}$ ) o sobre la eficiencia con la que se fijan los granos en la espiga apical (*i.e.*,  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$ ), que constituye el órgano que más aporta al RGP principalmente en condiciones de AD. Por tal motivo, en esta tesis se estudiaron no sólo los cambios en la morfología de las plantas generados por efecto del híbrido, la densidad y su interacción (Capítulo 2; *v.g.*, Cuadro 3.1) sino también la correlación entre los rasgos arquitecturales con la  $TCP_{PC}$  y la  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$  (Capítulo 3; Fig. 3.5 y 3.6). Además, se descompusieron las correlaciones en sus efectos directos e indirectos para construir modelos teóricos de causa-efecto, a través de la suma de los efectos directos de una variable sobre otra (senderos simples) y los efectos indirectos de una variable sobre otra vía una o más variables componentes (senderos compuestos)(Balzarini *et al.*, 2008)(Fig. 3.7 y 3.8).

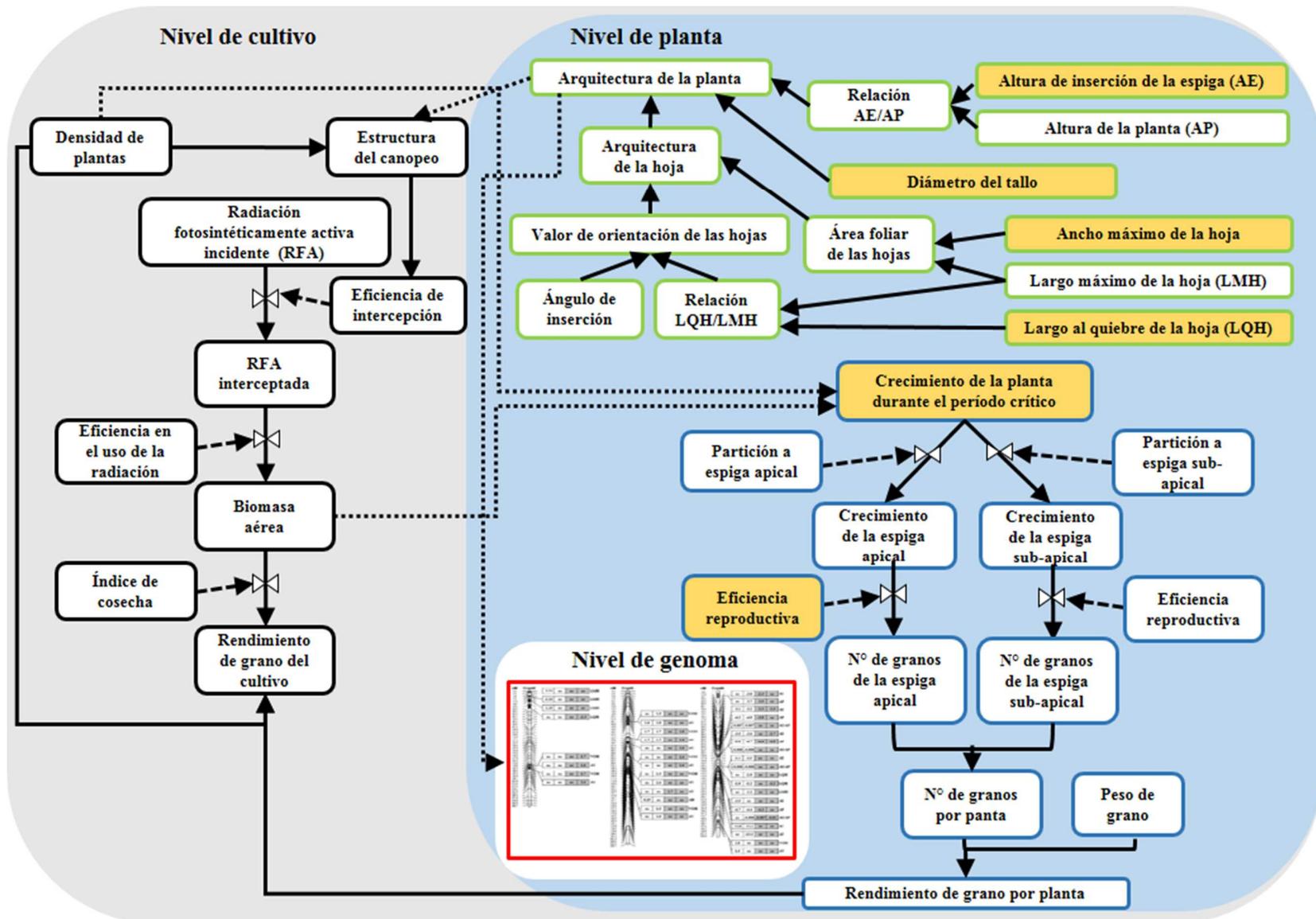
El mapeo de QTLs para la identificación de regiones del genoma asociadas a la determinación de rasgos de la arquitectura de las plantas y de las hojas de maíz es hasta la fecha muy limitado (Gonzalo *et al.*, 2010; Ku *et al.*, 2015; Ku *et al.*, 2016) y se ha utilizado una metodología que no permitía analizar conjuntamente numerosas variables en todos los ambientes. El Capítulo 4 de esta tesis abordó el mapeo de QTLs en una población de líneas recombinantes IBM (B73×Mo17) Syn4 utilizando la aproximación MCMA (Malosetti *et al.*, 2008) generando los BLUPs de la características evaluadas confiriendo la ventaja de modelar adecuadamente la estructura MCMA de las observaciones (Margarido *et al.*, 2015), ya que permite seleccionar la matriz de varianza-covarianza que mejor se ajusta al conjunto de datos. Esto permitió estudiar la existencia de co-localizaciones de QTLs así como la expresión de cada uno de ellos al modificarse los ambientes en un único análisis (Fig. 4.7).

## 5.2. Aportes originales al conocimiento científico

A partir de los resultados descritos en los diferentes capítulos que componen el cuerpo de esta tesis, resumidos en la Figura 5.1, se logró mejorar el conocimiento de los determinantes fisiológicos del NGP de híbridos de maíz liberados en las últimas cuatro décadas ante cambios en la densidad de plantas, como así también se logró conectar el crecimiento de las plantas y la eficiencia reproductiva de la espiga con la arquitectura de las mismas. Además se detectaron regiones del genoma involucradas en la determinación de caracteres arquitecturales relacionados con la tolerancia al estrés por AD.

El RG en híbridos de maíz liberados en diferentes décadas fue ampliamente estudiado. Sin embargo el trabajo publicado por Di Matteo *et al.* (2016), en paralelo al desarrollo de esta tesis, detectó que el mejoramiento aumentó el RG potencial y la tolerancia del mismo a la AD. Los resultados de esta tesis coinciden con la evidencia previa (Cuadro 2.2 y Cuadro Suplementario 6.1) y adicionalmente demuestran que los mayores RGP alcanzados por los híbridos más nuevos son debidos no sólo a un mayor NGP sino también a un sostenimiento mayor del PG ante el incremento en la densidad de plantas (Fig. 5.1). Este mayor NGP no estuvo asociado a una mayor  $TCP_{PC}$  sino a un mayor  $NGE_1$  principalmente relacionado con cambios en la eficiencia reproductiva de dicha espiga ( $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$ ; Cuadro 2.4 y Cuadro Suplementario 6.2 y Fig. 2.5 y 5.1), contrastando con los resultados encontrados por Echarte *et al.* (2004) en híbridos liberados en Argentina entre 1965 y 1993 donde el mayor  $NGE_1$  de los híbridos más nuevos se atribuyó a una mayor partición de asimilados a la espiga apical ( $TCE_{1PC} TCP_{PC}^{-1}$ ). Bajo el rango de densidades utilizadas en esta tesis, *i.e.*, medias a altas, y debido a que el mejoramiento se focalizó en el incremento del RG manteniendo el  $NGE_1$ , incrementar conjuntamente la  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$  y  $TCE_{1PC} TCP_{PC}^{-1}$  sería posible. Por el contrario, para las nuevas fronteras agrícolas donde el uso de la baja densidad de plantas es la práctica más frecuente, las plantas alcanzarían altas  $TCP_{PC}$ , y los mejoradores deberían considerar aumentar el RGP a través de la contribución del  $NGE_2$  al NGP, seleccionando cultivares que presenten una mayor  $TCE_{2PC} TCP_{PC}^{-1}$ , un rasgo relacionado positivamente con la prolificidad (considerando como espigas fértiles, aquellas que presentan más de 10 granos).

Estos resultados refutan parcialmente la primer hipótesis de esta tesis (*Los híbridos modernos, ante incrementos en la densidad de plantas, presentan una menor reducción en  $TCP_{PC}$  y una mayor  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$  que los híbridos antiguos, lo que genera, junto a un sostenido PG, un mayor rendimiento de granos por planta*).



**Figura 5.1.** Diagrama conceptual describiendo las principales conexiones entre los determinantes fisiológicos y numéricos del rendimiento en grano así como los rasgos de la arquitectura de las plantas implicados en la tolerancia del maíz a la alta densidad de plantas. La figura muestra las diferentes escalas de estudio abordadas en esta tesis donde las cajas de contorno azul indican los rasgos que abordó el Capítulo 2, verde el 3 y rojo el 4. Las flechas continuas representan relaciones entre variables y las discontinuas indican variables o procesos que regulan dichas relaciones. Las líneas punteadas indican rasgos relacionados en diferentes escalas. Las cajas llenas (naranja) representan los rasgos que explicaron mayormente el efecto del genotipo y/o la densidad de plantas.

Los rasgos arquitecturales de las plantas de maíz que inciden en la estructura del canopeo tuvieron un efecto genotípico fuerte que permitió demostrar que los híbridos más nuevos se caracterizaron por poseer una estructura de planta más compacta (por mayor LQH/LMH) y una menor relación AE/AP lo que provocaría menor propensión al vuelco (Cuadro 3.1 y Fig. 5.1). Adicionalmente, el híbrido más nuevo (DK72-10) también sostuvo una elevada  $AF_{pl}$  ante cambios en la densidad sin diferir del más antiguo en el AV. Este resultado se contrapone con los reportados por Duvick *et al.* (2004), Lee y Tollenaar (2007), Wang *et al.* (2011b), Ci *et al.* (2012) y Ma *et al.* (2014). Sin embargo, a pesar de que el híbrido más nuevo presentó una estructura de planta más compacta debido al mayor VOH (por mayor LQH/LMH generado por un mayor LQH) en todos los estratos del canopeo (Cuadro 3.2, 3.3 y 3.4), las diferencias de arquitectura encontradas en este capítulo entre híbridos nuevos y viejos no se tradujeron en diferencias de  $RFA_t/RFA_i$  en los tres estratos. Posiblemente los niveles de  $AF_{pl}$  generados en los Exps de esta tesis, no permitieron detectar los efectos de un distinto reordenamiento del canopeo sobre la atenuación de luz.

Los resultados de esta tesis permitieron mejorar el entendimiento del impacto de los rasgos arquitecturales sobre el crecimiento y la fijación de granos de las plantas de un canopeo de maíz. Sobre el crecimiento de las plantas en el período crítico, y como era esperable, el  $AF_{pl}$  tuvo un impacto positivo (Fig. 3.4 y 5.1). También permitieron establecer conexiones positivas de los atributos que hacen a una estructura de planta más compacta, como la mayor LQH/LMH del híbrido más nuevo y no necesariamente mayores AV como históricamente se reportó, sobre la  $TCP_{PC}$  y  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$  en ambientes de alto IAF (*i.e.*, D12; Fig. 3.6, 3.9 y 5.1). Dicha asociación medió a través de su efecto directo en el estrato inferior, e indirecto en el estrato medio y superior. En este sentido, esta tesis genera un aporte científico significativo, ya que los resultados encontrados permitieron determinar cuáles fueron los principales rasgos arquitecturales que mejoraron la  $TCP_{PC}$  y la  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$  para incrementar el NGP. Esta información precisa podría ser utilizada por los mejoradores para diseñar un ideotipo de planta adaptado a condiciones de alta competencia intra-específica. La evidencia reportada en esta tesis rechaza parcialmente la segunda hipótesis de trabajo (*Los híbridos modernos, presentan una estructura de planta más compacta que aumenta la interceptación de luz a la altura de la espiga con un consecuente aumento de  $TCP_{PC}$  y  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$  bajo condiciones de canopeos densos (*i.e.*, altas densidades de plantas)*) ya que no se registraron cambios en la captura de radiación a la altura de la espiga entre genotipos, ni en la  $TCP_{PC}$  pero sí, el híbrido más nuevo presentó una estructura de planta más compacta y una mayor  $NGE_1 TCE_{1PC}^{-1}$ . Futuros trabajos deberían dilucidar los mecanismos involucrados en la mayor eficiencia reproductiva de la espiga apical, *a priori* no asociada al balance de carbono en el estrato del canopeo alrededor de la espiga.

La variación fenotípica explorada por las RILs en el estudio de las regiones del genoma (Fig. 4.2) implicadas en la determinación de la mayoría de los rasgos de

arquitectura de las plantas que caracterizó a los híbridos evaluados en el Capítulo 3 (Cuadro 3.1, 3.3 y 3.4), permitió detectar numerosos QTLs. De esta manera no se rechaza la tercera hipótesis de esta tesis (*Existe variabilidad dentro de la población de RILs IBM (B73×Mo17) Syn4 para los rasgos arquitecturales, que conjuntamente con información de marcadores moleculares, permite detectar regiones genómicas y QTL determinantes de los mismos*). El análisis de QTLs confirmó la existencia de una relación estrecha entre aquellos que determinan el VOH y el AV con regiones del cromosoma 4 y 5 (Fig. 4.7 y 5.1) tal como fue hallada por varios autores (Li *et al.*, 2013; Ding *et al.* 2015; Ku *et al.*, 2010; 2016). A pesar de que el VOH de los híbridos (Capítulo 3) fue mayormente explicado por una mayor LQH/LMH debido a un elevado valor de LQH, la población de líneas recombinantes IBM (B73×Mo17) Syn4 mostró en contraste que su mayor VOH era producido por una mayor AV, relación fenotípica que también se encontró a nivel de genoma, a través de un elevado porcentaje de co-localizaciones. En cambio, la relación entre AE/AP y sus componentes mostró ser explicada mayormente por variaciones en la AE tanto en híbridos como en líneas (Fig. 3.1A y 4.6G). Sin embargo, las relaciones entre AE/AP y sus dos componentes fueron claras a nivel de genoma (co-localizaciones) confirmando la evidencia previa encontrada por numerosos autores (Gonzalo *et al.*, 2010; Peiffer *et al.*, 2014; Ku *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016). La AD generó variación fenotípica que permitió detectar QTLs adicionales a los hallados en BD. Finalmente, la integración de variables en el análisis usando la metodología propuesta por Malosetti *et al.* (2008) permitió hallar co-localizaciones que probablemente no eran esperables como las detectadas entre LQH con AE/AP y AE, y entre AF con AE/AP y sus componentes que podrían ser consideradas zonas interesantes para el mejoramiento asistido por marcadores moleculares ya que se encuentran asociadas a la generación de biomasa. Estos resultados no permiten rechazar la cuarta hipótesis de esta tesis (*Existen QTLs para ciertos rasgos arquitecturales asociados a la tolerancia a alta densidad de plantas que se co-localizan en una misma región genómica*).

### **5.3. Implicancias para investigaciones futuras**

No obstante los avances logrados en el entendimiento de i) la respuesta de los determinantes fisiológicos del NGP en híbridos de maíz antiguos y modernos al incremento en la densidad de plantas, ii) las conexiones entre la arquitectura de las plantas con el crecimiento de la planta en el período crítico y la fijación de granos en la espiga apical y iii) las regiones del genoma que determinan rasgos arquitecturales relacionados con la tolerancia al estrés por AD, numerosos aspectos de interés no han sido totalmente dilucidados y al mismo tiempo surgen nuevos interrogantes a resolver en investigaciones futuras. Algunos de estos aspectos se plantean a continuación.

#### **5.3.1. Arquitectura de planta y determinación del rendimiento de grano por planta ante manejos defensivos**

Los resultados del Capítulo 2 pusieron de manifiesto la importancia que tuvo la E<sub>1</sub> en determinar el mayor RGP de los híbridos más nuevos. La eficiencia para fijar granos en dicha espiga, determinó el mayor NG de la misma. Dicha estrategia resulta de gran importancia en AD. Los resultados del Capítulo 3 de esta tesis permitieron identificar rasgos de la arquitectura de planta que permitieron sostener la mayor fijación de granos en E<sub>1</sub>, determinando la superioridad de los genotipos más modernos en manejos de AD, *i.e.*, manejos defensivos. Sin embargo, las situaciones que pueden presentarse en los nuevos escenarios productivos argentinos, originados por el desplazamiento de la frontera agrícola, expone a los cultivos a ambientes limitantes de recursos edáficos,

nutricionales y a un régimen de precipitaciones errático que implica un manejo del maíz en BD. Ante estas situaciones, se deberían profundizar los conocimientos acerca del aporte de la espiga sub-apical al RGP y las relaciones entre la arquitectura de las plantas, la  $TCP_{PC}$ , la  $TCE_{2PC} TCP_{PC}^{-1}$  y la  $NGE_2 TCE_{2PC}^{-1}$ . Sin duda, en BD, se debería lograr una arquitectura de la planta que maximice la  $TCP_{PC}$  y contrariamente al manejo en AD, esto no se lograría con una arquitectura de planta compacta. Bajo estas condiciones, plantas con mayor  $AF_{pl}$ , hojas más planófilas y AZ aleatorios maximizarán la  $TCP_{PC}$  y posiblemente lograrían sostener elevadas  $TCE_{2PC}$  y  $NGE_2 TCE_{2PC}^{-1}$ . La evaluación de líneas endocriadas en BD, en cruza y en poblaciones de mapeo, permitiría no sólo conocer si existe variabilidad genética en estos rasgos que permita generar ganancia genética en este sentido, sino también conocer cómo se transmiten a la descendencia y cuáles son las regiones del genoma implicadas en su determinación.

### **5.3.2. ¿Cuáles son los mecanismos fisiológicos y moleculares que explican el impacto positivo de una estructura de planta compacta sobre el crecimiento de la planta en el período crítico y la fijación de granos en altas densidades de plantas en el cultivo de maíz?**

La conexión entre los rasgos que caracterizan la arquitectura de las plantas y de las hojas de los diferentes estratos de maíz con el crecimiento de la planta en el período crítico y con la fijación de granos en la espiga que explicó mayormente el NGP en los híbridos modernos (*i.e.*, la espiga apical) fue evidenciada en el Capítulo 3 de esta tesis. Se podría especular que bajo condiciones de alto IAF como las que se presentaron en D12 del Exp<sub>2</sub> de dicho capítulo, una mayor tasa fotosintética principalmente de aquellas hojas cercanas a la espiga no sólo generarían una mayor  $TCP_{PC}$  sino también una mayor eficiencia reproductiva de la espiga apical por poder sostener la provisión de asimilados a la misma. Mayores tasas de fotosíntesis neta ya fueron detectadas en la hoja de la espiga en híbridos chinos modernos cuando estos se analizaron retrospectivamente (Zhao *et al.*, 2015). No obstante, no existe evidencia alguna que analice la respuesta del intercambio neto de carbono (INC) ante incrementos en la competencia intra-específica como así también los mecanismos moleculares subyacentes en híbridos argentinos liberados en diferentes décadas. Estudiar dichos rasgos permitiría conocer el porqué de las asociaciones positivas encontradas en el Capítulo 3. Probablemente sea esperable que ante condiciones no limitantes de RFA, los híbridos modernos no presenten ventajas respecto a los antiguos en cuanto al INC. Sin embargo, bajo condiciones limitantes de RFA, principalmente en los estratos medio e inferior del canopeo, una menor respiración foliar asociada, probablemente a una menor AF específica (*i.e.*, hojas más delgadas) podría generar una ventaja en el balance de  $CO_2$  de híbridos modernos en altas densidades de plantas dentro del rango limitante de RFA. Las respuestas del INC y la respiración foliar podrían deberse tanto a la reducción de la RFA como de la relación R/RL. Para conocer si los cambios se producen en respuesta a las señales de menor R/RL, se podrían realizar experimentos con plantas de maíz mutantes de los fotorreceptores PHYB1 y PHYB2. Dichos mutantes son deficientes del gen del fitocromo PHYB1 (llamado *phyb1PHYB2*) y PHYB2 (llamado *PHYB1phyb2*) y manifiestan de manera constitutiva parte de las respuestas típicas a bajo R/RL a pesar de que no estén en esas condiciones (Sheenan *et al.*, 2007). Probablemente otros fitocromos (PHYA o PHYC) también deberían ser estudiados para conocer si desencadenan las respuestas esperadas descriptas anteriormente.

### 5.3.3. Validación de los QTLs detectados

Los QTLs detectados en el Capítulo 4, resultaron ser estables para la mayoría de las condiciones para AE/AP y sus componentes, sin embargo para VOH, AF y sus componentes la mayoría no fueron consistentes a través de las diferentes condiciones ambientales evaluadas. Por lo tanto, surge la necesidad de corroborar la detección de estos QTLs evaluando la misma población bajo las mismas densidades explorando otros ambientes (combinación localidad  $\times$  año). Dicha estabilidad también debe ser corroborada utilizando otros fondos genéticos (otra u otras líneas), ya que un QTL favorable asociado a la presencia del alelo perteneciente a uno de los parentales que compone la población puede modificar su efecto cuando es cruzado contra otro parental. Esto se debe al cambio del fondo genético mencionado y a la posible interacción con otros QTLs o epistásis (Bernardo, 2008) conocido como interacción QTL  $\times$  fondo genético que ha mostrado tener un fuerte impacto en caracteres complejos en maíz (Blanc *et al.*, 2006). Esta interacción podría evaluarse desarrollando poblaciones interconectadas a través de un parental (B73 o Mo17) lo que adicionalmente permitiría realizar un análisis de QTLs más robusto debido a un aumento en la cantidad de genotipos, y consecuentemente de alelos, a evaluar que permitiría alcanzar resultados más precisos.

La detección de genes candidatos relacionados a procesos fisiológicos que determinen la variación de los rasgos estudiados será el paso siguiente a la identificación de QTLs estables.

### 5.3.4. ¿El control genético del valor de orientación de la hoja es independiente de la posición de la misma a lo largo del tallo?

Los resultados del Capítulo 3 han demostrado la importancia que tuvo el VOH en los cambios observados en la arquitectura de la planta de los híbridos más nuevos y en la determinación del crecimiento de las plantas y la fijación de granos, mientras que el Capítulo 4 confirmó que regiones del genoma ubicadas en el cromosoma 4 y 5 se encontraron asociadas a variaciones en este rasgo pero se limitó sólo a las mediciones de las hojas ubicadas alrededor de la espiga. Un trabajo reciente de revisión sobre el estado actual y las perspectivas de la manipulación diferencial del AV a través del canopeo, muestra abundante evidencia que sugiere que el control genético del AV en los diferentes niveles del canopeo es independiente (Mantilla-Perez y Salas Fernandez, 2017). No sería extraño pensar que el VOH también posea un control genético independiente debido a que sus variaciones son parcialmente explicadas por el AV. Aunque, el fenotipado de alto caudal no fue utilizado aún para caracterizar todas las hojas del canopeo a campo, es indudablemente un recurso muy valioso para avanzar en la investigación genética del VOH, hacia el desarrollo de un diseño eficiente de la estructura del canopeo.

### 5.3.5. Determinar las aptitudes combinatorias y las correlaciones entre las líneas y sus híbridos derivados

Los resultados del Capítulo 4 permitieron confirmar las regiones cromosómicas implicadas en la determinación de rasgos arquitecturales asociados a la tolerancia al estrés por AD mientras que los del Capítulo 3 permitieron conectar el crecimiento y la fijación de granos con algunos de estos rasgos utilizando híbridos comerciales que son el producto final del mejoramiento genético. Sin embargo, el paso previo a la obtención de estos últimos, es conocer cuáles son los mejores progenitores dentro de un programa de mejoramiento. Para ello, se pueden diseñar cruzamientos, como los dialélicos parciales, que consisten en realizar cruzamientos entre dos grupos de genotipos

pertenecientes a diferentes grupos heteróticos. Este diseño a diferencia del dialélico completo, donde todos los genotipos se cruzan entre sí, permite evaluar una numerosa cantidad de líneas contra probadores de comportamiento conocido lo que constituye una situación habitual en programas de mejoramiento a gran escala. El análisis de estos datos permitiría particionar la varianza generada por las cruzas en la aptitud combinatoria general para cada grupo y la específica entre grupos. De este modo, se podría conocer cuáles son los mejores progenitores y además si los rasgos están determinados principalmente por efectos aditivos y/o dominantes. Dentro de este contexto, también resulta interesante estudiar la correlación entre líneas parentales e híbridos derivados para los rasgos en cuestión. En este sentido, el VOH, rasgo de alta heredabilidad y que además resulta fácil de fenotipar a campo, resulta de interés para obtener fenotipos que se adapten a una elevada competencia intra-específica.

## BIBLIOGRAFÍA

- Adriaanse, F., Human, J., 1992. A nitrogen-response comparison between semi-prolific and non-prolific maize hybrids with regard to grain yield and plant nitrogen concentrations. *Field Crops Research* 30, 53-61.
- Alvarez Prado, S., López, C.G., Gambín, B.L. *et al.*, 2013. Dissecting the genetic basis of physiological processes determining maize kernel weight using the IBM (B73×Mo17) Syn4 population. *Field Crops Research* 145, 33-43.
- Amelong, A., Gambín, B.L., Severini, A.D. *et al.*, 2015. Predicting maize kernel number using QTL information. *Field Crops Research* 172, 119-131.
- Andrade, F.H., 2016. Los desafíos de la agricultura. IPNI, Buenos Aires, Argentina.
- Andrade, F.H., Echarte, L., Rizzalli, R. *et al.*, 2002. Kernel number prediction in maize under nitrogen or water stress. *Crop Science* 42, 1173-1179.
- Andrade, F.H., Otegui, M.E., Vega, C.R.C., 2000. Intercepted radiation at flowering and kernel number in maize. *Agronomy Journal* 92, 92-97.
- Andrade, F.H., Uhart, S.A., Frugone, M.I., 1993. Intercepted radiation at flowering and kernel number in maize: shade versus plant density effects. *Crop Science* 33, 482-485.
- Andrade, F.H., Vega, C., Uhart, S. *et al.*, 1999a. Kernel number determination in maize. *Crop Science* 39, 453-459.
- Andrade, F.H., Vega, C., Uhart, S. *et al.*, 1999b. Kernel number determination in maize. *Crop Science* 39, 453-459.
- Andrieu, B., Hillier, J., Birch, C., 2006. Onset of sheath extension and duration of lamina extension are major determinants of the response of maize lamina length to plant density. *Annals of Botany* 98, 1005-1016.
- Argenta, G., Silva, P.R.F.d., Sangoi, L., 2001. Arranjo de plantas em milho: análise do estado-da-arte. *Ciência rural*. Santa Maria. Vol. 31, n. 6 (nov./dez. 2001), p. 1075-1084.
- Austin, D.F., Lee, M., Veldboom, L.R., 2001. Genetic mapping in maize with hybrid progeny across testers and generations: plant height and flowering. *Theoretical and Applied Genetics* 102, 163-176.
- Bai, W., Zhang, H., Zhang, Z. *et al.*, 2010. The evidence for non-additive effect as the main genetic component of plant height and ear height in maize using introgression line populations. *Plant Breeding* 129, 376-384.
- Balzarini, M.G., González, L., Tablada, M. *et al.*, 2008. Manual del usuario. Editorial Brujas, Córdoba, Argentina, 336.
- Ballaré, C., Scopel, A., Sanchez, R., 1997. Foraging for light: photosensory ecology and agricultural implications. *Plant, Cell & Environment* 20, 820-825.
- Ballaré, C.L., Casal, J.J., 2000. Light signals perceived by crop and weed plants. *Field Crops Res.* 67, 149-160.
- Ballaré, C.L., Scopel, A.L., Sánchez, R.A., 1990. Far-red radiation reflected from adjacent leaves: an early signal of competition in plant canopies. *Science* 247, 329-332.
- Beavis, W., Grant, D., Albertsen, M. *et al.*, 1991. Quantitative trait loci for plant height in four maize populations and their associations with qualitative genetic loci. *Theoretical and Applied Genetics* 83, 141-145.
- Berke, T.G., Rocheford, T.R., 1995. Quantitative trait loci for flowering, plant and ear height, and kernel traits in maize. *Crop Science* 35, 1542-1549.
- Berzsenyi, Z., Tokatlidis, I., 2012. Density dependence rather than maturity determines hybrid selection in dryland maize production. *Agronomy journal* 104, 331-336.

- Birch, C., Stephen, K., McLean, G. *et al.*, 2008. Reliability of production of quick to medium maturity maize in areas of variable rainfall in north-east Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 48, 326-334.
- Borrás, L., Gambín, B.L., 2010. Trait dissection of maize kernel weight: Towards integrating hierarchical scales using a plant growth approach. *Field Crops Research* 118, 1-12.
- Brekke, B., Edwards, J., Knapp, A., 2011. Selection and Adaptation to High Plant Density in the Iowa Stiff Stalk Synthetic Maize (*Zea mays* L.) Population: II. Plant Morphology. *Crop Science* 51, 2344-2351.
- Campos, H., Cooper, M., Edmeades, G.O. *et al.*, 2006. Changes in drought tolerance in maize associated with fifty years of breeding for yield in the U.S. Corn Belt. *Maydica* 51, 369-381.
- Campos, H., Cooper, M., Habber, J.E. *et al.*, 2004. Improving drought tolerance in maize: a view from industry. *Field Crops Research* 90, 19-34.
- Casal, J., Ballaré, C., Tourn, M. *et al.*, 1994. Anatomy, growth and survival of a long-hypocotyl mutant of *Cucumis sativus* deficient in phytochrome B. *Annals of Botany* 73, 569-575.
- Casal, J.J., Sánchez, R.A., Deregibus, V.A., 1987. Tillering responses of *Lolium multiflorum* plants to changes of red/far-red ratio typical of sparse canopies. *Journal of Experimental Botany* 38, 1432-1439.
- Casal, J.J., Sanchez, R.A., Deregibus, V.A., 1986. The effect of plant density on tillering: The involvement of R/FR ratio and the proportion of radiation intercepted per plant. *Environmental and Experimental Botany* 26, 365-371.
- Castleberry, R.M., Crum, C.W., Krull, C.F., 1984. Genetic Yield Improvement of U.S. Maize Cultivars under Varying Fertility and Climatic Environments1. *Crop Science* 24, 33-36.
- Ci, X., Li, M., Liang, X. *et al.*, 2011. Genetic contribution to advanced yield for maize hybrids released from 1970 to 2000 in China. *Crop Science* 51, 13-20.
- Ci, X., Li, M., Xu, J. *et al.*, 2012. Trends of grain yield and plant traits in Chinese maize cultivars from the 1950s to the 2000s. *Euphytica* 185, 395-406.
- Coulter, J.A., Nafziger, E.D., Janssen, M.R. *et al.*, 2010. Response of Bt and Near-Isoline Corn Hybrids to Plant Density. *Agronomy Journal* 102, 103-111.
- Chapman, S.C., Edmeades, G.O., 1999. Selection improves drought tolerance in tropical maize populations: II. Direct and correlated responses among secondary traits. *Crop Science* 39, 1315-1324.
- Chen, F., Zhu, S., Xiang, Y. *et al.*, 2010. Molecular marker-assisted selection of the *ae* alleles in maize. *Genetics and Molecular Research* 9, 1074-1084.
- Chen, K., Camberato, J.J., Vyn, T.J., 2017. Maize grain yield and kernel component relationships to morphophysiological traits in commercial hybrids separated by four decades. *Crop Science* 57, 1641-1657.
- Davis, G., Musket, T., Melia-Hancock, S. *et al.*, 2001. The intermated B73 Mo17 genetic map: a community resource. *Maize Genetics Conference Abstracts*, p. W15.
- Di Matteo, J.A., Ferreyra, J.M., Cerrudo, A.A. *et al.*, 2016. Yield potential and yield stability of Argentine maize hybrids over 45 years of breeding. *Field Crops Research* 197, 107-116.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G. *et al.*, 2016. InfoStat. Versión 2015. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina <http://www.infostat.com.ar>.

- Ding, J., Zhang, L., Chen, J. *et al.*, 2015. Genomic dissection of leaf angle in maize (*Zea mays* L.) using a four-way cross mapping population. *PLoS One* 10, e0141619.
- Dreccer, M., Schapendonk, A., Slafer, G. *et al.*, 2000. Comparative response of wheat and oilseed rape to nitrogen supply: absorption and utilisation efficiency of radiation and nitrogen during the reproductive stages determining yield. *Plant and Soil* 220, 189-205.
- Drouet, J.-L., Moulia, B., 1997. Spatial re-orientation of maize leaves affected by initial plant orientation and density. *Agricultural and Forest Meteorology* 88, 85-100.
- Duncan, W.G., 1971. Leaf angles, leaf area, and canopy photosynthesis. *Crop Science* 11, 482-485.
- Dunn, J.B., Mueller, S., Kwon, H.-y. *et al.*, 2013. Land-use change and greenhouse gas emissions from corn and cellulosic ethanol. *Biotechnology for Biofuels* 6, 51.
- Duvick, D.N., 1997. What is yield? In: Developing drought- and low n-tolerant maize. Edmeades, G.O., Bänziger, M., Mickelson, H.R., Peña-Valdivia, C.B. (eds). CIMMYT, El Batán, Mexico.
- Duvick, D.N., 2005a. The Contribution of Breeding to Yield Advances in maize (*Zea mays* L.). *Advances in Agronomy*. Academic Press, pp. 83-145.
- Duvick, D.N., 2005b. Genetic progress in yield of United States maize (*Zea mays* L.). *Maydica* 50, 193-202.
- Duvick, D.N., Cassman, K.G., 1999. Post-Green Revolution Trends in Yield Potential of Temperate Maize in the North-Central United States. *Crop Science* 39, 1622-1630.
- Duvick, D.N., Smith, J., Cooper, M., 2004. Long-term selection in a commercial hybrid maize breeding program. *Plant Breeding Reviews* 24, 109-152.
- Dwyer, L., Stewart, D., 1986. Leaf Area Development in Field-Grown Maize 1. *Agronomy Journal* 78, 334-343.
- Early, E., McIlrath, W., Seif, R. *et al.*, 1967. Effects of Shade Applied at Different Stages of Plant Development on Corn (*Zea mays* L.) Production 1. *Crop Science* 7, 151-156.
- Echarte, L., Andrade, F.H., 2003. Harvest index stability of Argentinean maize hybrids released between 1965 and 1993. *Field Crops Research* 82, 1-12.
- Echarte, L., Andrade, F.H., Vega, C.R.C. *et al.*, 2004. Kernel Number Determination in Argentinean Maize Hybrids Released between 1965 and 1993. *Crop Science* 44, 1654-1661.
- Echarte, L., Luque, S., Andrade, F.H. *et al.*, 2000. Response of maize kernel number to plant density in Argentinean hybrids released between 1965 and 1993. *Field Crops Research* 68, 1-8.
- Edgerton, M.D., 2009. Increasing Crop Productivity to Meet Global Needs for Feed, Food, and Fuel. *Plant Physiology*, 7-13.
- Eyhérabide, G.H., 2006. Mejoramiento genético de maíz y su trayectoria en la Argentina. En *maíz y nutrición. Informe sobre los usos y las propiedades nutricionales del maíz para la alimentación humana y animal. Recopilación de ILSI Argentina. Serie de Informes Especiales* 2, 14-21.
- Eyhérabide, G.H., Damilano, A.L., 2001. Comparison of genetic gain for grain yield of maize between the 1980s and 1990s in Argentina. *Maydica* 46, 277-281.
- Eyhérabide, G.H., Damilano, A.L., Colazo, J. *et al.*, 1992. Ganancia genética en rendimiento de grano de maíz en Argentina desde 1979 hasta 1991. En: *Asoc.*

- Ing. Agr. del Norte de la Prov. de Buenos Aires (Eds.), Actas del V Congreso Nacional de Maíz. Pergamino, Argentina, 70-78.
- FAO, 2017. El futuro de la alimentación y la agricultura. Tendencias y desafíos. .
- FAO, 2018. Statistics of farming production. Maize., <http://www.fao.org/faostat/en/#home>.
- Fasoula, V.A., Fasoula, D.A., 2002. Principles underlying genetic improvement for high and stable crop yield potential. *Field Crops Research* 75, 191-209.
- Girardin, P., Tollenaar, M., 1994. Effects of intraspecific interference on maize leaf azimuth. *Crop Science* 34, 151-155.
- Gonzalo, M., Holland, J., Vyn, T. *et al.*, 2010. Direct mapping of density response in a population of B73× Mo17 recombinant inbred lines of maize (*Zea mays* L.). *Heredity* 104, 583.
- Gonzalo, M., Vyn, T., Holland, J. *et al.*, 2007. Mapping reciprocal effects and interactions with plant density stress in *Zea mays* L. *Heredity* 99, 14.
- Gonzalo, M., Vyn, T.J., Holland, J.B. *et al.*, 2006. Mapping density response in maize: a direct approach for testing genotype and treatment interactions. *Genetics*.
- Gou, L., Xue, J., Qi, B. *et al.*, 2017. Morphological Variation of Maize Cultivars in Response to Elevated Plant Densities. *Agronomy Journal* 109, 1443-1453.
- GraphPad Prism version 6.00 para Windows, GraphPad Prism version 6.00 for Windows, GraphPad Software La Jolla California USA [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com).
- Guo, J., Chen, Z., Liu, Z. *et al.*, 2011. Identification of genetic factors affecting plant density response through QTL mapping of yield component traits in maize (*Zea mays* L.). *Euphytica* 182, 409.
- Haeghele, J.W., Cook, K.A., Nichols, D.M. *et al.*, 2013. Changes in Nitrogen Use Traits Associated with Genetic Improvement for Grain Yield of Maize Hybrids Released in Different Decades. *Crop Science* 53, 1256-1268.
- Hallauer, A., Miranda Filho, J., 1988. Quantitative genetics in maize breeding., 2nd edn (Iowa State University Press: Ames, IA).
- Hammer, G.L., Dong, Z., McLean, G. *et al.*, 2009. Can Changes in Canopy and/or Root System Architecture Explain Historical Maize Yield Trends in the U.S. Corn Belt? . *Crop Science* 49, 299-312.
- Huang, S., Gao, Y., Li, Y. *et al.*, 2017. Influence of plant architecture on maize physiology and yield in the Heilonggang River valley. *The Crop Journal* 5, 52-62.
- Iowa State University Extension, 2009. Corn field guide. Iowa State University Extension, Ames, IA.
- Ipsilandis, C.G., Vafias, B.N., 2005. Plant density effects on grain yield per plant in maize: Breeding implications. *Asian Journal of Plant Science* 4, 31-39.
- Jantaboon, J., Siangliw, M., Im-Mark, S. *et al.*, 2011. Ideotype breeding for submergence tolerance and cooking quality by marker-assisted selection in rice. *Field Crops Research* 123, 206-213.
- Johnson, E.C., Fischer, K.S., Edmeades, G.O. *et al.*, 1986. Recurrent Selection for Reduced Plant Height in Lowland Tropical Maize1. *Crop Science* 26, 253-260.
- Kasperbauer, M., Karlen, D., 1994. Plant spacing and reflected far-red light effects on phytochrome-regulated photosynthate allocation in corn seedlings. *Crop Science* 34, 1564-1569.
- Kearsey, M., Pooni, H., Bulmer, M., 1996. The Genetical Analysis of Quantitative Traits. *Genetical Research* 68, 183.

- Kebrom, T.H., Brutnell, T.P., 2007. The molecular analysis of the shade avoidance syndrome in the grasses has begun. *Journal of Experimental Botany* 58, 3079-3089.
- Kiniry, J.R., Xie, Y., Gerik, T.J., 2002. Similarity of maize seed number responses for a diverse set of sites. *Agronomie* 22, 265-272.
- Koester, R.P., Sisco, P.H., Stuber, C.W., 1993. Identification of quantitative trait loci controlling days to flowering and plant height in two near isogenic lines of maize. *Crop Science* 33, 1209-1216.
- Kosambi, D.D., 1943. The estimation of map distances from recombination values. *Annals Human Genetics* 12, 172-175.
- Kraja, A., Dudley, J., 2000. QTL analysis of two maize inbred line crosses. *Maydica* 45, 1-12.
- Ku, L., Ren, Z., Chen, X. *et al.*, 2016. Genetic analysis of leaf morphology underlying the plant density response by QTL mapping in maize (*Zea mays* L.). *Molecular Breeding* 36, 63.
- Ku, L., Zhang, L., Tian, Z. *et al.*, 2015. Dissection of the genetic architecture underlying the plant density response by mapping plant height-related traits in maize (*Zea mays* L.). *Molecular Genetics and Genomics* 290, 1223-1233.
- Ku, L.X., Zhao, W.M., Zhang, J. *et al.*, 2010. Quantitative trait loci mapping of leaf angle and leaf orientation value in maize (*Zea mays* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 121, 951-959.
- Kumar, J., Mir, R., Kumar, N. *et al.*, 2010. Marker-assisted selection for pre-harvest sprouting tolerance and leaf rust resistance in bread wheat. *Plant Breeding* 129, 617-621.
- Lambert, R.J., Johnson, R.R., 1978. Leaf Angle, Tassel Morphology, and the Performance of Maize Hybrids. *Crop Science* 18, 499-502.
- Lambert, R.J., Mansfield, B.D., Mumm, R.H., 2014. Effect of leaf area on maize productivity. *Maydica* 59, 58-64.
- Laserna, M.P., Maddonni, G.A., López, C.G., 2012. Phenotypic variations between non-transgenic and transgenic maize hybrids. *Field Crops Research* 134, 175-184.
- Lashkari, M., Madani, H., Ardakani, M.R. *et al.*, 2011. Effect of Plant Density on Yield and Yield Components of Different Corn (*Zea mays* L.) Hybrids. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences* 10, 450-457.
- Lee, E.A., Tollenaar, M., 2007. Physiological Basis of Successful Breeding Strategies for Maize Grain Yield. *Crop Science* 47, 202-215.
- Lee, M., Sharopova, N., Beavis, W.D. *et al.*, 2002. Expanding the genetic map of maize with the intermated B73× Mo17 (IBM) population. *Plant Molecular Biology* 48, 453-461.
- Li, C., Li, Y., Shi, Y. *et al.*, 2015. Genetic control of the leaf angle and leaf orientation value as revealed by ultra-high density maps in three connected maize populations. *PloS One* 10, e0121624.
- Li, X., Zhou, Z., Ding, J. *et al.*, 2016. Combined linkage and association mapping reveals QTL and candidate genes for plant and ear height in maize. *Frontiers in Plant Science* 7, 833.
- Li, Y., Dong, Y., Niu, S. *et al.*, 2007. The genetic relationship among plant-height traits found using multiple-trait QTL mapping of a dent corn and popcorn cross. *Genome* 50, 357-364.
- Licht, M.A., Lenssen, A.W., Elmore, R.W., 2017. Corn (*Zea mays* L.) seeding rate optimization in Iowa, USA. *Precision Agriculture* 18, 452-469.

- Lima, M.d.L.A., de Souza, C.L., Bento, D.A.V. *et al.*, 2006. Mapping QTL for grain yield and plant traits in a tropical maize population. *Molecular Breeding* 17, 227-239.
- Long, S.P., ZHU, X.G., Naidu, S.L. *et al.*, 2006. Can improvement in photosynthesis increase crop yields? *Plant, Cell and Environment* 29, 315-330.
- López-Juez, E., Nagatani, A., Tomizawa, K.-I. *et al.*, 1992. The cucumber long hypocotyl mutant lacks a light-stable PHYB-like phytochrome. *The Plant Cell* 4, 241-251.
- Lorieux, M., 2007. MapDisto, a free user-friendly program for computing genetic maps. Computer demonstration given at the Plant and Animal Genome XV conference. San Diego.
- Lu, M., Zhou, F., Xie, C.-X. *et al.*, 2007. Construction of a SSR linkage map and mapping of quantitative trait loci (QTL) for leaf angle and leaf orientation with an elite maize hybrid. *Hereditas* 29, 1131-1138.
- Luque, S.F., Cirilo, A.G., Otegui, M.E., 2006. Genetic gains in grain yield and related physiological attributes in Argentine maize hybrids. *Field Crops Research* 95, 383-397.
- Ma, D.-L., Xie, R.-Z., Niu, X.-K. *et al.*, 2014. Changes in the morphological traits of maize genotypes in China between the 1950s and 2000s. *European Journal of Agronomy* 58, 1-10.
- Maddonni, G.A., Chelle, M., Drouet, J.-L. *et al.*, 2001a. Light interception of contrasting azimuth canopies under square and rectangular plant spatial distributions: simulations and crop measurements. *Field Crops Research* 70, 1-13.
- Maddonni, G.A., Otegui, M.E., 1996. Leaf area, light interception, and crop development in maize. *Field Crops Research* 48, 81-87.
- Maddonni, G.A., Otegui, M.E., 2004. Intra-specific competition in maize: early establishment of hierarchies among plants affects final kernel set. *Field Crops Research* 85, 1-13.
- Maddonni, G.A., Otegui, M.E., Andrieu, B. *et al.*, 2002. Maize Leaves Turn Away from Neighbors. *Plant Physiology* 130, 1181-1189.
- Maddonni, G.A., Otegui, M.E., Cirilo, A.G., 2001b. Plant population density, row spacing and hybrid effects on maize canopy architecture and light attenuation. *Field Crops Research* 71, 183-193.
- Malosetti, M., Ribaut, J.M., Vargas, M. *et al.*, 2008. A multi-trait multi-environment QTL mixed model with an application to drought and nitrogen stress trials in maize (*Zea mays* L.). *Euphytica* 161, 241-257.
- Mansfield, B.D., Mumm, R.H., 2014. Survey of Plant Density Tolerance in U.S. Maize Germplasm. *Crop Science* 54, 157-173.
- Mantilla-Perez, M.B., Salas-Fernandez, M.G., 2017. Differential manipulation of leaf angle throughout the canopy: current status and prospects. *Journal of Experimental Botany*, 68, 21, 5699-5717.
- Margarido, G., Pastina, M., Souza, A. *et al.*, 2015. Multi-trait multi-environment quantitative trait loci mapping for a sugarcane commercial cross provides insights on the inheritance of important traits. *Molecular Breeding* 35, 175.
- McMullen, M.D., Kresovich, S., Villeda, H.S. *et al.*, 2009. Genetic properties of the maize nested association mapping population. *Science* 325, 737-740.
- Mickelson, S., Stuber, C., Senior, L. *et al.*, 2002. Quantitative trait loci controlling leaf and tassel traits in a B73× Mo17 population of maize. *Crop Science* 42, 1902-1909.

- Mikel, M.A., Dudley, J.W., 2006. Evolution of North American dent corn from public to proprietary germplasm. *Crop Science* 46, 1193-1205.
- Montgomery, E.G., 1911. Correlation studies in corn. Lincoln, NE. , 108–159.
- Moose, S.P., Mumm, R.H., 2008. Molecular Plant Breeding as the Foundation for 21st Century Crop Improvement. *Plant Physiology* 147, 969-977.
- Nafziger, E., 2008. Corn. In: E. Nafziger, editor, *Illinois agronomy handbook*, 24th ed. University of Illinois Extension, University of Illinois, Urbana, IL. 13-26.
- Otegui, M.a.E., Bonhomme, R., 1998. Grain yield components in maize: I. Ear growth and kernel set. *Field Crops Research* 56, 247-256.
- Otegui, M.E., 1997. Kernel Set and Flower Synchrony within the Ear of Maize : II. Plant Population Effects. *Crop Science* 37, 448-455.
- Otegui, M.E., Nicolini, M.G., Ruiz, R.A. *et al.*, 1995. Sowing Date Effects on Grain Yield Components for Different Maize Genotypes. *Agronomy Journal* 87, 29-33.
- Pagano, E., Cela, S., Maddonni, G.A. *et al.*, 2007. Intra-specific competition in maize: Ear development, flowering dynamics and kernel set of early-established plant hierarchies. *Field Crops Research* 102, 198-209.
- Peiffer, J.A., Romay, M.C., Gore, M.A. *et al.*, 2014. The genetic architecture of maize height. *Genetics*, genetics. 113.159152.
- Pelleschi, S., Leonardi, A., Rocher, J.-P. *et al.*, 2006. Analysis of the relationships between growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism using quantitative trait loci (QTLs) in young maize plants subjected to water deprivation. *Molecular Breeding* 17, 21-39.
- Pepper, G.E., Pearce, R.B., Mock, J.J., 1977. Leaf Orientation and Yield of Maize1. *Crop Science* 17, 883-886.
- Popp, M., Edwards, J., Manning, P. *et al.*, 2006. Plant population density and maturity effects on profitability of short-season maize production in the Midsouthern USA. *Agronomy Journal* 98, 760-765.
- Raihan, M.S., Liu, J., Huang, J. *et al.*, 2016. Multi-environment QTL analysis of grain morphology traits and fine mapping of a kernel-width QTL in Zheng58× SK maize population. *Theoretical and Applied Genetics* 129, 1465-1477.
- Rajcan, I., Swanton, C.J., 2001. Understanding maize-weed competition: resource competition, light quality and the whole plant. *Field Crops Research* 71, 139-150.
- Reymond, M., Muller, B., Tardieu, F., 2004. Dealing with the genotype× environment interaction via a modelling approach: a comparison of QTLs of maize leaf length or width with QTLs of model parameters. *Journal of Experimental Botany* 55, 2461-2472.
- Ribaut, J.-M., Fracheboud, Y., Monneveux, P. *et al.*, 2007. Quantitative trait loci for yield and correlated traits under high and low soil nitrogen conditions in tropical maize. *Molecular Breeding* 20, 15-29.
- Rieseberg, L.H., Archer, M.A., Wayne, R.K., 1999. Transgressive segregation, adaptation and speciation. *Heredity* 83, 363-372.
- Rieseberg, L.H., Widmer, A., Arntz, A.M. *et al.*, 2002. Directional selection is the primary cause of phenotypic diversification. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99, 12242-12245.
- Ritchie, S., Hanway, J., Benson, G. *et al.*, 1993. How a corn plant develops. Iowa State University Cooperative Extension Service. Special Report 48.

- Rossini, M.A., Maddonni, G.A., Otegui, M.E., 2011. Inter-plant competition for resources in maize crops grown under contrasting nitrogen supply and density: Variability in plant and ear growth. *Field Crops Research* 121, 373-380.
- Russell, W., 1985. Evaluations for plant, ear, and grain traits of maize cultivars representing 7 eras of breeding. *Maydica* 30, 85-96.
- Russell, W.A., 1991. Genetic Improvement of Maize Yields. In: Sparks, D.L. (Ed.), *Advances in Agronomy*. Academic Press, pp. 245-298.
- Sangoi, L., Gracietti, M.A., Rampazzo, C. *et al.*, 2002. Response of Brazilian maize hybrids from different eras to changes in plant density. *Field Crops Research* 79, 39-51.
- Sarquís, J.I., Gonzalez, H., Dunlap, J.R., 1998. Yield response of two cycles of selection from a semiprolific early maize (*Zea mays* L.) population to plant density, sucrose infusion and pollination control. *Field Crops Research* 55, 109-116.
- SAS Institute Inc, 2009. SAS OnlineDoc 9.4. SAS Institute: Cary, NC.
- Schnable, P.S., Ware, D., Fulton, R.S. *et al.*, 2009. The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics. *Science* 326, 1112-1115.
- Seki, M., Narusaka, M., Ishida, J. *et al.*, 2002. Monitoring the expression profiles of 7000 Arabidopsis genes under drought, cold and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray. *The Plant Journal* 31, 279-292.
- Shaver, D., 1983. Genetics and breeding of maize with extra leaves above the ear. In 38th Proceedings of Annual Corn Sorghum Research Conference, pp. 161-180.
- Sheenan, M.J., Kennedy, L.M., Costich, D.E., Brutnell, T.P., 2007. Subfunctionalization of PhyB1 and PhyB2 in the control of seedling and mature plant traits in maize. *The Plant Journal* 49, 338-353.
- Sibov, S.T., Lopes De Souza Jr, C., Garcia, A.A.F. *et al.*, 2003. Molecular mapping in tropical maize (*Zea mays*L.) using microsatellite markers. 2. Quantitative trait loci (QTL) for grain yield, plant height, ear height and grain moisture. *Hereditas* 139, 107-115.
- Smith, H., Whitelam, G., 1997. The shade avoidance syndrome: multiple responses mediated by multiple phytochromes. *Plant, Cell and Environment* 20, 840-844.
- Song, Y., Rui, Y., Bedane, G. *et al.*, 2016. Morphological characteristics of maize canopy development as affected by increased plant density. *PloS One* 11, e0154084.
- Stendal, C., Casler, M., Jung, G., 2006. Marker-assisted selection for neutral detergent fiber in smooth brome grass. *Crop Science* 46, 303-311.
- Subedi, K., Ma, B., 2005. Ear position, leaf area, and contribution of individual leaves to grain yield in conventional and leafy maize hybrids. *Crop Science* 45, 2246-2257.
- Subedi, K., Ma, B., Smith, D., 2006. Response of a leafy and non-leafy maize hybrid to population densities and fertilizer nitrogen levels. *Crop Science* 46, 1860-1869.
- Tanksley, S.D., McCouch, S.R., 1997. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. *Science* 277, 1063-1066.
- Tetio-Kagho, F., Gardner, F., 1988. Responses of maize to plant population density. I. Canopy development, light relationships, and vegetative growth. *Agronomy Journal* 80, 930-935.
- Thomison, P., 2011. Corn plant population trends. *Corn & Soybean Digest*, Minneapolis, MN. . <http://cornandsoybeandigest.com/seed/corn-plant-population-trends>.

- Tian, F., Bradbury, P.J., Brown, P.J. *et al.*, 2011. Genome-wide association study of leaf architecture in the maize nested association mapping population. *Nature Genetics* 43, 159.
- Tilman, D., Balzer, C., Hill, J. *et al.*, 2011. Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108, 20260-20264.
- Tokatlidis, I., Has, V., Melidis, V. *et al.*, 2011. Maize hybrids less dependent on high plant densities improve resource-use efficiency in rainfed and irrigated conditions. *Field Crops Research* 120, 345-351.
- Tokatlidis, I.S., Koutroubas, S.D., 2004. A review of maize hybrids dependence on high plant populations and its implications for crop yield stability. *Field Crops Research* 88, 103-114.
- Tollenaar, M., 1989. Genetic improvement in grain yield of commercial maize hybrids grown in Ontario from 1959 to 1988. *Crop Science* 29, 1365-1371.
- Tollenaar, M., Dwyer, L., Stewart, D., 1992. Ear and kernel formation in maize hybrids representing three decades of grain yield improvement in Ontario. *Crop Science* 32, 432-438.
- Tollenaar, M., Dwyer, L.M., 1992. Ear and kernel formation in maize hybrids representing three decades of grain yield improvement in Ontario. *Crop Science* 32, 432-438.
- Tollenaar, M., Lee, E.A., 2002. Yield potential, yield stability and stress tolerance in maize. *Field Crops Research* 75, 161-169.
- Tollenaar, M., Wu, J., 1999. Yield Improvement in Temperate Maize is Attributable to Greater Stress Tolerance. *Crop Science* 39, 1597-1604.
- Troyer, A., 2000. *Temperate corn: Background, behavior, and breeding*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Troyer, A.F., 1996. Breeding widely adapted, popular maize hybrids. *Euphytica* 92, 163-174.
- Troyer, A.F., 1999. Background of US hybrid corn. *Crop Science* 39, 601-626.
- United State Census Bureau, 2012. World POPClock project. . United States Census Bureau, Washington, DC.  
<http://www.census.gov/population/popclockworld.html>
- USDA-NASS, 2017. USDA-National Agricultural Statistical Service (USDA-NASS). 2015. Corn: Grain yield. United States, 1866 to date. USDA-NASS, Washington, DC.
- Van Ooijen, J.W., 1999. LOD significance thresholds for QTL analysis in experimental populations of diploid species. *Heredity* 83, 613.
- Van Roekel, R.J., Coulter, J.A., 2011. Agronomic Responses of Corn to Planting Date and Plant Density. *Agronomy Journal* 103, 1414-1422.
- Van Roekel, R.J., Coulter, J.A., 2012. Agronomic Responses of Corn Hybrids to Row Width and Plant Density. *Agronomy Journal* 104, 612-620.
- Varga, B., Svecnjak, Z., Knezevic, M. *et al.*, 2004. Performance of prolific and nonprolific maize hybrids under reduced-input and high-input cropping systems. *Field Crops Research* 90, 203-212.
- Vega, C., Sadras, V., 2003. Size-dependent growth and the development of inequality in maize, sunflower and soybean. *Annals of Botany* 91, 795-805.
- Vega, C.R.C., Andrade, F.H., Sadras, V.O., 2001a. Reproductive partitioning and seed set efficiency in soybean, sunflower and maize. *Field Crops Research* 72, 163-175.

- Vega, C.R.C., Andrade, F.H., Sadras, V.O. *et al.*, 2001b. Seed Number as a Function of Growth. A Comparative Study in Soybean, Sunflower, and Maize Crop Science 41, 748-754.
- Wang, S., Basten, C.J., Zeng, Z.B., 2011a. Windows QTL Cartographer 2.5. . Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC.
- Wang, T., Ma, X., Li, Y. *et al.*, 2011b. Changes in Yield and Yield Components of Single-Cross Maize Hybrids Released in China between 1964 and 200 1. Crop Science 51, 512-525.
- Wassom, J.J., 2013. Quantitative trait loci for leaf angle, leaf width, leaf length, and plant height in a maize (*Zea mays* L) B73× Mo17 population. Maydica 58, 318-321.
- Welch, M.E., Rieseberg, L.H., 2002. Habitat divergence between a homoploid hybrid sunflower species, *Helianthus paradoxus* (Asteraceae), and its progenitors. American Journal of Botany 89, 472-478.
- Westgate, M.E., Forcella, F., Reicosky, D.C. *et al.*, 1997. Rapid canopy closure for maize production in the northern US corn belt: radiation-use efficiency and grain yield. Field Crops Research 49, 249-258.
- Williams, W., Loomis, R., Duncan, W. *et al.*, 1968. Canopy Architecture at Various Population Densities and the Growth and Grain Yield of Corn2. Crop Science 8, 303-308.
- Winter, S., Ohlrogge, A., 1973. Leaf Angle, Leaf Area, and Corn (*Zea mays* L.) Yield 1. Agronomy Journal 65, 395-397.
- Yang, C., Tang, D., Qu, J. *et al.*, 2016. Genetic mapping of QTL for the sizes of eight consecutive leaves below the tassel in maize (*Zea mays* L.). Theoretical and Applied Genetics 129, 2191-2209.
- Yu, J., Holland, J.B., McMullen, M.D. *et al.*, 2008. Genetic design and statistical power of nested association mapping in maize. Genetics 178, 539-551.
- Yu, Y., Zhang, J., Shi, Y. *et al.*, 2006. QTL analysis for plant height and leaf angle by using different populations of maize. Journal of Maize Sciences 14, 88-92.
- Zhai, L., Xie, R., Wang, P. *et al.*, 2016. Impact of recent breeding history on the competitiveness of Chinese maize hybrids. Field Crops Research 191, 75-82.
- Zhao, J., Yang, X., Lin, X. *et al.*, 2015. Radiation interception and use efficiency contributes to higher yields of newer maize hybrids in Northeast China. Agronomy Journal 107, 1473-1480.
- Zheng, Z., Liu, X., 2013. Genetic analysis of agronomic traits associated with plant architecture by QTL mapping in maize. Genetics and Molecular Research 12, 1243-1253.

## ANEXO

**Cuadro Suplementario 6.1.** Tasa de crecimiento de planta (TCP<sub>PC</sub>), espiga apical (TCE<sub>1PC</sub>) y espiga sub-apical (TCE<sub>2PC</sub>) durante el período crítico, el rendimiento de grano por planta (RGP), el número de granos por planta (NGP), de espiga apical (NGE<sub>1</sub>) y de espiga sub-apical (NGE<sub>2</sub>), peso de grano (PG) y prolificidad de cuatro híbridos de maíz (H) cultivados a tres densidades de plantas (D) [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas m<sup>-2</sup>] en dos experimentos a campo (Exp). Los niveles de significancia de cada tratamiento y las interacciones de cada rasgo son indicadas por símbolos: †  $p < 0.1$ ; \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; ns: diferencias no significativas. Las diferencias mínimas significativas son detalladas entre paréntesis.

Exp <sub>1</sub>	Híbrido	TCP <sub>PC</sub>	TCE <sub>1PC</sub>	TCE <sub>2PC</sub>	RGP	NGP	NGE <sub>1</sub>	NGE <sub>2</sub>	PG	Prolificidad	
		(g d <sup>-1</sup> )			(g pl <sup>-1</sup> )				(mg gr <sup>-1</sup> )	(espigas pl <sup>-1</sup> )	
Densidad	D <sub>4</sub>	DK3F22	5.99	2.26	1.05	206.2	728.8	538.0	357.0	273.2	1.54
		DK752	5.04	2.35	1.28	231.9	805.1	521.0	299.2	290.2	1.95
		DK747	6.30	2.79	1.29	286.4	905.9	630.4	336.3	320.1	1.81
		DK72-10	6.05	2.54	1.35	298.8	950.5	644.8	364.6	318.4	1.83
		<b>Media</b>	<b>5.85</b>	<b>2.49</b>	<b>1.24</b>	<b>255.8</b>	<b>847.6</b>	<b>583.5</b>	<b>339.3</b>	<b>300.5</b>	<b>1.78</b>
	D <sub>8</sub>	DK3F22	4.18	1.83	0.24	132.8	464.8	447.9	169.0	286.9	1.07
		DK752	3.42	2.06	0.17	132.2	452.2	443.6	42.8	284.2	1.03
		DK747	4.11	2.10	0.15	170.8	538.5	538.5	0	315.3	1.00
		DK72-10	3.67	2.17	0.10	175.2	542.9	539.8	30.7	322.4	1.03
		<b>Media</b>	<b>3.85</b>	<b>2.04</b>	<b>0.17</b>	<b>152.7</b>	<b>499.6</b>	<b>492.5</b>	<b>60.6</b>	<b>302.2</b>	<b>1.03</b>
	D <sub>12</sub>	DK3F22	2.39	1.24	0.06	81.2	310.5	329.4	0	220.6	0.87
		DK752	2.21	1.38	0.12	98.6	358.6	356.4	22	277.1	1.03
		DK747	2.29	1.32	0.02	100.4	357.2	357.2	0	275.5	1.00
		DK72-10	2.48	1.52	0.04	118.1	374.2	374.2	0	316.2	1.00
		<b>Media</b>	<b>2.34</b>	<b>1.37</b>	<b>0.06</b>	<b>99.6</b>	<b>350.1</b>	<b>354.3</b>	<b>5.5</b>	<b>272.4</b>	<b>0.98</b>
D	<i>p</i>	*** (0.33)	*** (0.17)	*** (0.11)	*** (11.1)	*** (38.1)	*** (25.9)	*** (46.3)	** (16.7)	*** (0.09)	
H	<i>p</i>	** (0.38)	* (0.20)	ns	*** (12.9)	*** (44.0)	*** (29.9)	ns	*** (19.3)	** (0.10)	
H×D	<i>p</i>	ns	ns	ns	** (22.3)	* (76.2)	ns	ns	ns	* (0.17)	
Exp <sub>2</sub>	Híbrido	TCP <sub>PC</sub>	TCE <sub>1PC</sub>	TCE <sub>2PC</sub>	RGP	NGP	NGE <sub>1</sub>	NGE <sub>2</sub>	PG	Prolificidad	
		(g d <sup>-1</sup> )			(g pl <sup>-1</sup> )				(mg gr <sup>-1</sup> )	(espigas pl <sup>-1</sup> )	
Densidad	D <sub>4</sub>	DK3F22	5.53	2.28	1.03	190.0	731.1	522.2	404.2	263.2	1.57
		DK752	6.31	2.42	1.01	210.2	788.1	558.0	255.5	270.3	1.81

		DK747	5.15	2.36	0.71	204.6	687.7	562.7	303.6	288.7	1.37
		DK72-10	6.21	2.35	1.15	248.6	864.9	641.9	297.3	290.1	1.71
		<b>Media</b>	<b>5.80</b>	<b>2.35</b>	<b>0.98</b>	<b>213.1</b>	<b>768.0</b>	<b>571.2</b>	<b>315.2</b>	<b>278.1</b>	<b>1.62</b>
	D <sub>8</sub>	DK3F22	2.86	1.40	0.14	81.2	342.3	338.4	22.2	226.9	1.10
		DK752	2.97	1.70	0.16	117.3	478.4	471.9	65.3	244.5	1.03
		DK747	3.21	1.72	0.11	132.2	528.4	527.0	14.3	249.2	1.03
		DK72-10	3.63	1.65	0.17	136.8	551.2	551.2	0	251.5	1.00
		<b>Media</b>	<b>3.17</b>	<b>1.62</b>	<b>0.15</b>	<b>116.9</b>	<b>475.1</b>	<b>472.1</b>	<b>25.5</b>	<b>243.0</b>	<b>1.04</b>
	D <sub>12</sub>	DK3F22	1.81	0.87	0.05	49.5	221.7	221.7	0	204.9	0.90
		DK752	1.88	1.15	0.02	78.9	333.9	333.9	0	239.2	1.00
		DK747	2.23	1.16	0	83.3	341.2	341.2	0	245.9	1.00
		DK72-10	2.66	1.28	0.05	99.3	401.4	401.4	0	245.7	1.00
		<b>Media</b>	<b>2.15</b>	<b>1.12</b>	<b>0.03</b>	<b>77.7</b>	<b>324.5</b>	<b>324.5</b>	<b>0</b>	<b>233.9</b>	<b>0.98</b>
D	<i>p</i>		*** (0.52)	*** (0.14)	*** (0.18)	*** (19.4)	*** (82.3)	*** (43)	*** (63)	*** (11.5)	*** (0.14)
H	<i>p</i>		ns	* (0.16)	ns	*** (22.4)	** (95.0)	*** (49.7)	ns	*** (13.3)	ns
H×D	<i>p</i>		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

**Cuadro Suplementario 6.2.** Partición de biomasa a espiga apical ( $TCE_{1PC}/TCP_{PC}$ ) y a espiga sub-apical ( $TCE_{2PC}/TCP_{PC}$ ) durante el período crítico y eficiencia reproductiva a nivel de planta ( $NGP/TCP_{PC}$ ), a nivel de espiga apical ( $NGE_1/TCE_{1PC}$ ) y a nivel de espiga sub-apical ( $NGE_2/TCE_{2PC}$ ) de cuatro híbridos de maíz (H) cultivados a tres densidades de plantas (D) [4 (D4), 8 (D8) y 12 (D12) plantas  $m^{-2}$ ] en dos experimentos a campo (Exp). Los niveles de significancia de cada tratamiento y las interacciones de cada rasgo son indicadas por símbolos: †  $p < 0.1$ ; \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; ns: diferencias no significativas. Las diferencias mínimas significativas son detalladas entre paréntesis.

Exp <sub>1</sub>	Híbrido	$TCE_{1PC}/TCP_{PC}$	$TCE_{2PC}/TCP_{PC}$	$NGP/TCP_{PC}$	$NGE_1/TCE_{1PC}$ ( $gr\ g^{-1}\ d^{-1}$ )	$NGE_2/TCE_{2PC}$	
Densidad	D <sub>4</sub>	DK-3F22	0.39	0.17	128.1	254.9	222.3
		DK-752	0.47	0.26	163.0	233.3	223.3
		DK-747	0.44	0.20	144.0	207.5	211.6
		DK-7210	0.42	0.21	158.2	267.7	219.2

		<b>Media</b>	<b>0.43</b>	<b>0.21</b>	<b>148.3</b>	<b>240.9</b>	<b>219.1</b>
D <sub>8</sub>		DK-3F22	0.43	0.05	108.4	240.5	136.5
		DK-752	0.60	0.05	139.2	228.9	50.9
		DK-747	0.52	0.04	135.7	266.2	0
		DK-7210	0.61	0.03	153.1	253.3	91.0
		<b>Media</b>	<b>0.54</b>	<b>0.04</b>	<b>134.1</b>	<b>247.2</b>	<b>69.6</b>
D <sub>12</sub>		DK-3F22	0.43	0.02	109.3	214.5	0
		DK-752	0.66	0.05	172.5	261.5	30.5
		DK-747	0.56	0.01	147.9	256.8	0
		DK-7210	0.63	0.01	156.4	250.4	0
		<b>Media</b>	<b>0.57</b>	<b>0.02</b>	<b>146.5</b>	<b>245.8</b>	<b>7.6</b>
D	<i>p</i>		*** (0.04)	*** (0.02)	ns	ns	*** (59.3)
H	<i>p</i>		*** (0.05)	* (0.03)	*** (15.2)	ns	ns
H×D	<i>p</i>		ns	ns	ns	ns	ns
Exp <sub>2</sub>		Híbrido	TCE <sub>1PC</sub> /TCP <sub>PC</sub>	TCE <sub>2PC</sub> /TCP <sub>PC</sub>	NGP/TCP <sub>PC</sub>	NGE <sub>1</sub> /TCE <sub>1PC</sub>	NGE <sub>2</sub> /TCE <sub>2PC</sub>
						(gr g <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	
Densidad	D <sub>4</sub>	DK-3F22	0.44	0.19	138.4	238.9	323.8
		DK-752	0.41	0.16	129.0	235.3	199.3
		DK-747	0.48	0.14	137.9	234.5	221.1
		DK-7210	0.39	0.19	140.5	279.5	213.5
		<b>Media</b>	<b>0.43</b>	<b>0.17</b>	<b>136.5</b>	<b>247.0</b>	<b>239.4</b>
	D <sub>8</sub>	DK-3F22	0.48	0.05	117.3	223.5	16.7
		DK-752	0.61	0.05	178.2	290.8	48.3
		DK-747	0.54	0.03	170.1	311.5	25.5
		DK-7210	0.47	0.05	153.4	331.3	0
		<b>Media</b>	<b>0.53</b>	<b>0.05</b>	<b>154.7</b>	<b>289.3</b>	<b>22.6</b>
	D <sub>12</sub>	DK-3F22	0.46	0.03	111.5	225.6	0
		DK-752	0.62	0.01	182.9	293.1	0
		DK-747	0.52	0.00	151.6	295.7	0
		DK-7210	0.49	0.02	150.9	308.9	0
		<b>Media</b>	<b>0.52</b>	<b>0.01</b>	<b>149.2</b>	<b>280.8</b>	<b>0</b>
D	<i>p</i>		*** (0.05)	*** (0.10)	ns	*** (19.4)	*** (51.3)
H	<i>p</i>		** (0.05)	ns	*** (18.1)	*** (22.4)	ns
H×D	<i>p</i>		ns	ns	* (31.4)	* (38.9)	ns