

**Mecanismos fisiológicos y genéticos asociados a la
determinación del peso de grano y relación fuente-destino en
maíz en ambientes contrastantes en nitrógeno**

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

Ignacio R. Hisse
Ingeniero Agrónomo
Universidad de Buenos Aires
2020

Lugar de trabajo: Cátedra de Producción Vegetal
Departamento de Producción Vegetal
Facultad de Agronomía
Universidad de Buenos Aires



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



COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

María E. Otegui

Ingeniera Agrónoma (Universidad de Buenos Aires)
Magister Scientiae (Universidad Nacional de Mar del Plata)
Doctor (Université Paris XI, UFRS d'Orsay, France)

Co-director

Karina E. D'Andrea

Ingeniera Agrónoma (Universidad de Buenos Aires)
Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

JURADO DE TESIS

Director de tesis

María E. Otegui

Ingeniera Agrónoma (Universidad de Buenos Aires)
Magister Scientiae (Universidad Nacional de Mar del Plata)
Doctor (Université Paris XI, UFRS d'Orsay, France)

JURADO

Felix Manuel San Vicente Garcia

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional Autónoma de México)
PhD en Ciencias Agrarias (Iowa state University)

JURADO

Pedro Maximiliano Tognetti

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)
Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

JURADO

Leonardo Sebastián Vanzetti

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)
Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

Fecha de defensa de la tesis: 29 de Abril de 2020

A mi familia y amigos

Agradecimientos

A María Otegui por darme la posibilidad de formar parte de su grupo de trabajo, por dedicarme su tiempo, por su excelente predisposición y generosidad, y por sus invaluable aportes en el desarrollo de la tesis.

A Karina D'Andrea por su gran apoyo y confianza desde el principio. Por sus valiosos aportes, profesionalismo, y por su gran dedicación siempre, muchas gracias!

A Alfredo Cirilo por su excelente predisposición, generosidad, y su gran ayuda para resolver las contingencias en el día a día durante el desarrollo de los experimentos.

A Ale Seco y Lu Galizia por haber compartido infinidad de momentos durante los experimentos en Pergamino, así como durante todo el proceso de doctorado, por la posibilidad de discutir e intercambiar ideas, y brindarme su ayuda siempre.

A Luisito Blanco, Facu Curín, Mailén Riviera Rubín, Carlos Trentín, Martín Parco, Fiorella Policastro, por su gran ayuda con los experimentos, y por la buena onda siempre a pesar del cansancio y de las largas horas de trabajo.

A mis compañeros de oficina Robinson Navarrete, Seba Rodriguez, Dani Becheran, Martín Parco, Carlina Piedra, Pato Lo Valvo, Geno Pignataro por el buen ambiente de trabajo, por tantos mates compartidos, por hacerse siempre un tiempo para escucharme, por todo lo que aprendí en el día a día y por haber sido un gran apoyo siempre.

A toda la gente de las cátedras de Producción Vegetal y de Cereales, por el buen ambiente de trabajo que generan día a día.

A los jurados por sus comentarios y la valiosa discusión que mantuvimos durante la defensa de la tesis.

A la FAUBA por otorgarme el lugar de trabajo, a Monsanto y CONICET por otorgarme las becas para la realización del doctorado.

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. Ignacio R. Hisse

PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS

Hisse, I.R., D'Andrea, K.E., Otegui, M.E. 2019. *Source-sink relations and kernel weight in maize inbred lines and hybrids: Responses to contrasting nitrogen supply levels*. Field Crops Res., 230:151–159.

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ABREVIATURAS	xv
RESUMEN	xvii
ABSTRACT	xviii
CAPÍTULO 1	1
“Introducción General”	1
1.1. Presentación del problema y revisión de antecedentes	2
1.2. Fisiología del peso de grano	2
1.2.1. Componentes fisiológicos asociados al peso de grano	3
1.2.2. Relaciones fuente-destino y determinación del peso de grano	4
1.2.3. Respuesta del peso de grano y la relación fuente-destino a la disponibilidad de nitrógeno	5
1.3. Mejoramiento genético del peso de grano y sus componentes fisiológicos en maíz	6
1.3.1. Efectos génicos asociados a los componentes fisiológicos del peso de grano y relación fuente-destino en etapas reproductivas	7
1.3.2. Heterosis para componentes fisiológicos del peso de grano y su relación con el ambiente explorado	9
1.4. Objetivos e Hipótesis	10
1.4.1. Objetivo General	10
1.4.2. Objetivos e hipótesis particulares	10
1.5. Estructura de la tesis	11
CAPÍTULO 2	12
“Relación fuente-destino y peso de grano en líneas e híbridos de maíz: Respuesta a niveles de nitrógeno contrastantes”	12
2.1. Introducción	13
2.2. Materiales y Métodos	14
2.2.1. Material genético	14
2.2.2. Manejo del cultivo y diseño experimental	15
2.2.3. Mediciones	15
2.2.4. Análisis estadístico	16
2.3. Resultados	17
2.3.1. Condiciones meteorológicas y disponibilidad de nitrógeno en el suelo	17
2.3.2. Crecimiento de la planta, relación fuente-destino y componentes del rendimiento	18
2.3.3. Relaciones fuente-destino y determinación del peso de grano en respuesta a la disponibilidad de nitrógeno	22
2.4. Discusión	26
2.4.1. Producción de biomasa, relación fuente-destino y peso de grano en respuesta a la disponibilidad de nitrógeno	26
2.4.2. Respuesta de los híbridos y las líneas a la disponibilidad de nitrógeno	28
CAPÍTULO 3	31
“Efectos génicos del peso de grano y relaciones fuente-destino en maíz en ambientes contrastantes en nitrógeno”	31

3.1. Introducción	32
3.2. Materiales y métodos	33
3.2.1. Material genético	33
3.2.2. Manejo del cultivo y diseño experimental	33
3.2.3. Mediciones	33
3.2.4. Análisis estadístico	34
3.3. Resultados	36
3.3.1. Caracterización fenotípica	36
3.3.2. Heredabilidad y componentes de aptitud combinatoria	40
3.3.3. Magnitud de la aptitud combinatoria y heterosis en condiciones contrastantes de nitrógeno	42
3.4. Discusión	44
3.4.1. Peso de grano y sus componentes fisiológicos	46
3.4.2. Componentes del rendimiento, crecimiento por planta y relación fuente-destino 47	47
3.5. Conclusiones	48
CAPÍTULO 4	50
“Asociaciones genéticas del peso de grano y sus componentes fisiológicos en maíz en ambientes contrastantes en nitrógeno”.....	50
4.1. Introducción	51
4.2. Materiales y métodos	52
4.2.1. Material genético, manejo del cultivo y diseño experimental	52
4.2.2. Mediciones	52
4.2.3. Análisis estadístico	52
4.3. Resultados	54
4.3.1. Aptitud combinatoria general de las líneas y asociación con su fenotipo	54
4.3.2. Asociaciones de los efectos de aptitud combinatoria: peso de grano y sus determinantes fisiológicos	59
4.3.3. Asociaciones de los efectos de aptitud combinatoria: crecimiento de la planta, relación fuente-destino y componentes del rendimiento	63
4.3.4. Asociaciones genéticas	67
4.4. Discusión	70
4.4.1. Correlación entre el comportamiento de las líneas y su aptitud combinatoria 71	71
4.4.2. Asociaciones genéticas entre el PG_E y sus componentes fisiológicos	72
4.4.3. Asociaciones genéticas entre los componentes del rendimiento, crecimiento por planta y relación fuente-destino	74
4.5. Conclusiones	76
CAPÍTULO 5	78
“Discusión general”.....	78
5.1. Contexto de la problemática abordada	79
5.2. Contraste de hipótesis	79
5.3. Mecanismos de asociación genética del peso del grano y sus determinantes fisiológicos: un modelo conceptual	82
5.4. Contribución al avance del conocimiento	85
5.4.1. Efecto del nitrógeno sobre el peso de grano	85
5.4.2. Mejoramiento en ambientes sub-óptimos	85
5.4.3. Mecanismos de asociación genética del peso de grano y sus componentes fisiológicos	86
5.5. Nuevos interrogantes y futuras líneas de investigación	88

5.5.1. Variabilidad genotípica en la respuesta del peso de grano a la oferta de nitrógeno mediada por los cambios en la relación fuente-destino	88
5.5.2. Asociaciones genéticas entre los rasgos de partición de biomasa y componentes fisiológicos del peso de grano	88
5.5.3. Regresiones aptitud combinatoria general de las líneas parentales–fenotipo de los híbridos	88
5.5.4. Utilidad de los atributos secundarios del peso de grano para ser considerados en el mejoramiento genético	89
Bibliografía	90

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 2.1. Descripción de las líneas endocriadas.....	14
Cuadro 2.2. Valores del análisis de suelo a la siembra del estrato superior (0,4 m) del perfil, y datos climáticos promedio del período entre emergencia y madurez fisiológica (E-MF), período crítico para la fijación de granos (PC), y período de llenado efectivo (PLLE). Los datos corresponden a experimentos desarrollados durante el 2002-03 (Exp. 1), 2003-04 (Exp. 2), 2013-14 (Exp. 3), y 2014-15 (Exp. 4). El valor más alto de cada variable está en negrita.....	18
Cuadro 2.3. Mitad superior: valores medios \pm error estándar de los factores de efectos fijos experimento (E), nitrógeno (N) y grupo genotípico (GG). Mitad inferior: análisis de varianza. Los datos corresponden a experimentos desarrollados durante el 2002-03 (Exp. 1), 2003-04 (Exp. 2), 2013-14 (Exp. 3), y 2014-15 (Exp. 4).....	19
Cuadro 2.4. Valores medios de los atributos evaluados en híbridos (H) y líneas endocriadas (L) creciendo bajo dos condiciones de nitrógeno (N0 y N1). Porcentaje de cambio (% Cambio) expresado como relativo a N0. Los datos corresponden a experimentos llevados a cabo durante el 2002-03 (Exp. 1), 2003-04 (Exp. 2), 2013-14 (Exp. 3) y 2014-15 (Exp. 4). Para cada atributo, el valor más alto de % Cambio de cada combinación Experimento \times Grupo Genotípico está en negrita.....	21
Cuadro 3.1. Cuadrados medios del análisis de varianza correspondientes al híbrido (H), ambiente (A) e interacción $H \times A$ para el peso del grano estimado (PG_E) y sus determinantes fisiológicos, evaluados en un diseño dialélico completo en cuatro ambientes. Los ambientes son el resultado de la combinación de dos años experimentales (2013-14 y 2014-15) y dos condiciones de N (N0 y N1).....	39
Cuadro 3.2. Cuadrados medios del análisis de varianza correspondientes al híbrido (H), ambiente (A) e interacción $H \times A$ para los componentes del rendimiento, crecimiento de la planta y relación fuente-destino, evaluados en un diseño dialélico completo en cuatro ambientes. Los ambientes son el resultado de la combinación de dos años experimentales (2013-14 y 2014-15) y dos condiciones de N (N0 y N1).....	40
Cuadro 3.3. Cuadrados medios correspondientes a la aptitud combinatoria general (ACG), específica (ACE), efecto del cruzamiento recíproco (REC) y sus interacciones con el ambiente ($ACG \times A$, $ACE \times A$, $REC \times A$), y heredabilidad en sentido amplio (H^2) para el peso del grano estimado (PG_E) y sus determinantes fisiológicos, evaluados en un diseño dialélico completo en cuatro ambientes. Para la descripción de los atributos referirse a la Cuadro 3.1.....	41
Cuadro 3.4. Cuadrados medios correspondientes a la aptitud combinatoria general (ACG), específica (ACE), efecto del recíproco (REC) y sus interacciones ($ACG \times A$, $ACE \times A$, $REC \times A$), y heredabilidad en sentido amplio (H^2) para los componentes del rendimiento, crecimiento de la planta y relación fuente-destino, evaluados en un diseño dialélico completo en cuatro ambientes. Para la descripción de los atributos referirse a la Cuadro 3.2.....	42

- Cuadro 4.1.** Aptitud combinatoria general (ACG) de las líneas parentales para peso de grano y determinantes fisiológicos, y correlación entre la ACG y el valor fenotípico de las líneas (r_{ACG_VF}) para cada combinación Atributo \times N ($n = 12$). Los valores positivo y negativo más altos de ACG para cada combinación Atributo \times N se encuentran en color verde y rojo, respectivamente.....56
- Cuadro 4.2.** Aptitud combinatoria general (ACG) de las líneas parentales, y correlación entre la ACG y el valor fenotípico de las líneas (r_{ACG_VF}) para cada combinación Atributo \times N ($n = 12$) para atributos de crecimiento de la planta, relación fuente-destino y componentes numéricos del rendimiento. Los valores positivo y negativo más altos de ACG para cada combinación Atributo \times N se encuentran en color verde y rojo, respectivamente.....58
- Cuadro 4.3.** Correlación de *Pearson* para las aptitudes combinatorias general (r_{ACG}) y específica (r_{ACE}) del PG_E con las correspondientes a sus atributos secundarios. Los datos corresponden a seis líneas endocriadas evaluadas en sus 30 híbridos simples derivados, a través de todos los ambientes (Prom.; $n=24$ para ACG, $n=60$ para ACE), y para cada condición de N (N0: sin fertilizar, N1: fertilizado con 200 kg N ha^{-1} ; $n=12$ para ACG, $n=30$ para ACE).....61
- Cuadro 4.4.** Correlación de *Pearson* para las aptitudes combinatorias general (r_{ACG}) y específica (r_{ACE}) del NGP (valor en la celda superior) y del PG_M (valor en la inferior) con las correspondientes a atributos del crecimiento por planta y relación fuente-destino durante el llenado de los granos. Los datos corresponden a seis líneas endocriadas evaluadas en sus 30 híbridos simples derivados. Prom. corresponde al valor a lo través de todos los ambientes (Prom.; $n=24$ para ACG, $n=60$ para ACE), y para cada condición de N (N0: sin fertilizar, N1: fertilizado con 200 kg N ha^{-1} ; $n=12$ para ACG, $n=30$ para ACE).....66
- Cuadro 4.5.** Coeficientes de senderos directos (en negrita) e indirectos de los efectos genéticos correspondientes a los determinantes fisiológicos del peso de grano sobre los efectos genéticos del PG_E . $PG_E(r)$ representa el coeficiente de correlación entre el PG_E y cada uno de sus componentes fisiológicos. Para los casos de correlación significativa, el efecto indirecto más alto en términos absolutos se destaca con color (en verde y en rojo para el valor positivo y negativo, respectivamente).....68
- Cuadro 4.6.** Coeficientes de senderos directos (en negrita) e indirectos de las variables de crecimiento por planta y relación fuente-destino durante el período crítico y el llenado efectivo sobre el peso del grano medio (PG_M). $PG_M(r)$ representa el coeficiente de correlación entre el PG_M y los atributos evaluados. Para los casos de correlación significativa, el efecto indirecto más alto en términos absolutos se destaca con color (en verde y en rojo para el valor positivo y negativo, respectivamente).....70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Diagrama esquemático de los modelos que describen la dinámica de (A) peso seco (línea llena) y volumen (línea punteada) del grano, y (B) contenido de agua (línea punteada) y concentración de humedad (línea llena) del grano.....4

Figura 2.1. Respuesta del peso de grano (PG) al crecimiento por planta por grano durante el período de llenado efectivo (CP_{PLLE} grano⁻¹) en (A) híbridos (n = 168), y (B) líneas (n = 48). Los genotipos se cultivaron durante cuatro años y bajo dos condiciones de N. Los símbolos representan niveles de N (llenos para N1 y vacíos para N0). Para cada grupo genotípico se ajustó ($P < 0,001$) un modelo bi-lineal con *plateau* (línea entrecortada). Las diferencias en el tamaño de los símbolos corresponden al número de granos por planta (NGP), representado en tres grupos de valores (tamaño de los símbolos). El rango de NGP osciló entre (A) 216 y 621 granos pl⁻¹, y (B) 101 y 480 granos pl⁻¹. La línea punteada representa la relación 1:1.....23

Figura 2.2. Relación entre el cambio relativo del peso de grano (PG) y el cambio relativo del crecimiento por planta por grano durante el período de llenado efectivo (CP_{PLLE} grano⁻¹), ambos calculados como la diferencia relativa entre ambos niveles de nitrógeno, i.e. $(N0-N1)/N1$. Un modelo lineal (línea azul) y uno bi-lineal con *plateau* (línea naranja) ajustó el conjunto de datos de los híbridos (n = 84; $P < 0,001$) y de las líneas (n = 24; $P < 0,05$), respectivamente.....24

Figura 2.3. Respuesta del peso de grano (PG) a la tasa de crecimiento por planta por grano durante el período crítico (TCP_{PC} grano⁻¹) en (A) híbridos (n = 168), y (B) líneas (n = 48). Los genotipos se cultivaron durante cuatro años y bajo dos condiciones de N. Un modelo bi-lineal con *plateau* ajustó el conjunto de datos en N1 para los híbridos (línea azul entrecortada; $P < 0,001$) y las líneas (línea naranja entrecortada; $P < 0,01$). Un modelo lineal (línea celeste entrecortada) ajustó el conjunto de datos en N0 sólo para los híbridos. Los símbolos tienen la misma descripción que en la Fig. 2.1.....25

Figura 2.4. Correlación fenotípica (r) entre los atributos fisiológicos evaluados para cada combinación Grupo Genotípico × Nivel de N. Las líneas sólidas y entrecortadas indican correlaciones positivas y negativas, respectivamente. La tonalidad y el ancho de las líneas corresponden a la escala relativa a la correlación más robusta del gráfico. Correlaciones menores a 0,30 o no significativas ($P > 0,05$) no se muestran. CP_{PLLE} : crecimiento por planta durante el período de llenado efectivo; NGP: número de granos por planta; PG: peso de grano; TCP_{PC} : tasa de crecimiento por planta durante el período crítico.....26

Figura 3.1. Datos primarios y estadísticos descriptivos de (A) el peso de grano estimado (PG_E) y sus caracteres secundarios, y (B) los atributos asociados con el crecimiento de la planta, la relación fuente-destino y componentes del rendimiento en grano. Los datos corresponden a híbridos (H, n = 360) y líneas (L, n = 72) cultivados durante dos años experimentales (2013/14 y 2014/15) en dos niveles de N (N0, sin el agregado de fertilizante; N1, fertilizado con 200 kg N ha⁻¹). Cada punto representa una combinación de genotipo × repetición × nivel de N × año experimental. Los círculos de mayor tamaño corresponden al promedio de cada condición de N (N0: claros, N1:

oscuros) para cada grupo genotípico. Las líneas horizontales inferior, superior y central de la caja representan los percentiles 25°, 75° y 50°, respectivamente.....37

Figura 3.2. Proporción de la varianza genética total atribuible a la acción génica aditiva para (A) PG_E y sus determinantes fisiológicos, y (B) atributos de crecimiento de la planta, relación fuente-destino y componentes del rendimiento, evaluados durante dos años experimentales (2013-14 y 2014-15) en dos niveles de nitrógeno (N0 y N1). Prom. corresponde al promedio de todos los atributos. Para una descripción detallada de los caracteres referirse a la Fig. 3.1.....43

Figura 3.3. Valores porcentuales de aptitud combinatoria general (ACG) y específica (ACE) (A) PG_E y sus determinantes fisiológicos, y (B) atributos de crecimiento de la planta, relación fuente-destino y componentes del rendimiento, relativos a la condición N0, calculados como la diferencia relativa entre ambos niveles de nitrógeno [(N0-N1)/N0]. Los datos corresponden a dos años experimentales (2013-14 y 2014-15). Para una descripción detallada de los atributos referirse a la Fig. 3.1.....43

Figura 3.4. Valores de heterosis de padre medio (HPM) para (A) PG_E y sus determinantes fisiológicos, y (B) atributos de crecimiento de la planta, relación fuente-destino y componentes del rendimiento, evaluados durante dos años experimentales (2013-14 y 2014-15) en dos niveles de nitrógeno (N0 y N1). Prom. corresponde al promedio de todos los atributos. Para una descripción detallada de los caracteres referirse a la Fig. 3.1.....44

Figura 4.1. *Biplots* de los dos primeros componentes principales (CP 1 y CP 2) para aptitud combinatoria general (ACG) del PG_E y sus determinantes fisiológicos, evaluados en seis líneas endocriadas bajo (A) N0, y (B) N1. Los resultados corresponden a dos años experimentales (2013-14 y 2014-15). Los atributos están representados por vectores y los genotipos por puntos.....60

Figura 4.2. *Biplots* de los dos primeros componentes principales (CP 1 y CP 2) para aptitud combinatoria específica (ACE) del PG_E y sus determinantes fisiológicos, evaluados en 15 híbridos y bajo (A) N0, y (B) N1. Los resultados corresponden a dos años experimentales (2013-14 y 2014-15). Los atributos están representados por vectores y los genotipos por puntos. Genotipos naranjas y azules corresponden a asociaciones con la ACE del PG_E positivas y negativas, respectivamente. Para la descripción de los atributos referirse a la Fig. 4.1.....63

Figura 4.3. *Biplots* de los dos primeros componentes principales (CP 1 y CP 2) para aptitud combinatoria general (ACG) de los atributos de crecimiento por planta, relación fuente-destino del llenado, y componentes del rendimiento, evaluados en seis líneas endocriadas bajo (A) N0, y (B) N1. Los resultados corresponden a dos años experimentales (2013-14 y 2014-15). Los atributos están representados por vectores y los genotipos por puntos.....65

Figura 4.4. *Biplots* de los dos primeros componentes principales (CP 1 y CP 2) para aptitud combinatoria específica (ACE) de los atributos de crecimiento por planta, relación fuente-destino durante el llenado, y componentes del rendimiento, evaluados en 15 híbridos bajo (A) N0, y (B) N1. Los resultados corresponden a dos años experimentales (2013-14 y 2014-15). Los atributos están representados por vectores y los genotipos por puntos. Genotipos naranjas y azules corresponden a asociaciones con

la ACE del PG_M positivas y negativas, respectivamente. Para la descripción de los atributos referirse a la Fig. 4.2.....67

Figura 4.5. Diagrama de senderos mostrando relaciones entre los efectos génicos del PG_E y el de sus determinantes fisiológicos. 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. Flechas de color negro y rojo representan asociaciones positivas y negativas, respectivamente. Los valores de correlación (r) entre cada variable componente y la variable respuesta se presentan en la Cuadro 4.5. Para la descripción de los atributos referirse a la Fig. 4.1. Valor- r significativo con una probabilidad de *0,05; **0,01 ó ***0,001 ($n = 60$).....69

Figura 4.6. Diagrama de senderos mostrando relaciones entre los efectos génicos del peso del grano medio (PG_M) y los correspondientes a las variables consideradas determinantes del mismo; i.e. tanto el NGP como el crecimiento por planta y la relación fuente-destino durante el período crítico y el llenado efectivo. Las flechas dobles representan asociaciones mutuas entre variables estimadas a partir del coeficiente de correlación (r) y las flechas simples representan influencias directas sobre PG_M estimadas a partir de los coeficientes de sendero. Flechas de color negro y rojo representan asociaciones positivas y negativas, respectivamente. Los valores de correlación (r) entre cada variable componente y la variable respuesta se presentan en el Cuadro 4.6. Para la descripción de los atributos referirse a la Fig. 4.2. Valor- r significativo con una probabilidad de *0,05; **0,01 ó ***0,001 ($n = 60$).....70

Figura 5.1. Esquema general de los principales mecanismos genéticos asociados a la determinación del peso de grano (PG) identificados en esta tesis. Las flechas continuas representan efectos directos y las punteadas efectos indirectos las cuales controlan las llaves de flujo que regulan a las variables de efectos directos. Conectores con punta triangular y lisa representan efectos positivos y negativos, respectivamente. Las flechas verticales en gris oscuro y los símbolos (+, -, =) ubicados al costado de cada atributo constituyen el nivel de cambio en N_0 respecto a N_1 para la proporción de varianza aditiva y heredabilidad en sentido amplio, respectivamente.....84

ABREVIATURAS

°Cd	Grado centígrado día
A	Ambiente
AC	Aptitud combinatoria
ACE	Aptitud combinatoria específica
ACG	Aptitud combinatoria general
CHMF	Concentración de humedad a madurez fisiológica
CP _{PLLE}	Crecimiento por planta durante el período de llenado efectivo
CP _{PLLE} grano ⁻¹	CP _{PLLE} por grano
DFL	Duración de fase <i>lag</i>
DLLE	Duración del llenado efectivo de grano
DLLG	Duración total del llenado de grano
Exp.	Experimento
F ₁	Híbrido simple
GG	Grupo Genotípico
<i>gl</i>	Grados de libertad
H	Híbrido
<i>H</i> ²	Heredabilidad en sentido amplio
<i>h</i> ²	Heredabilidad en sentido estricto
HPM	Heterosis de padre medio
IC	Índice de cosecha
INTA	Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
L	Línea
MCAG	Máximo contenido de agua del grano
MF	Madurez fisiológica
MVG	Máximo volumen del grano
N	Nitrógeno
N0	Sin agregado de N
N1	Fertilizado con 200 ó 400 kg N ha ⁻¹
NG	Número de granos
NGP	Número de granos por planta
ns	No significativo
<i>P</i>	Probabilidad
PG	Peso individual de grano
PG _E	Peso individual de grano estimado
PG _M	Peso individual de grano medio
PM	Padre medio
QTL	<i>Quantitative trait loci</i>
<i>r</i>	Coefficiente de correlación de <i>Pearson</i>
<i>r</i> ²	Coefficiente de determinación
R ₂	15 días post- <i>silking</i>
R ₆	Madurez fisiológica
REC	Cruzamiento recíproco
RG	Rendimiento en grano
RGP	Rendimiento en grano por planta
TCG	Tasa de crecimiento del grano
TCP _{PC}	Tasa de crecimiento por planta durante el período crítico
TCP _{PC} grano ⁻¹	TCP _{PC} por grano

TDG	Tasa de desecación del grano
TT	Tiempo térmico
V ₃	tres hojas liguladas
V ₉	nueve hojas liguladas
V ₁₄	15 días pre- <i>silking</i>
VA	Varianza aditiva

Mecanismos fisiológicos y genéticos asociados a la determinación del peso de grano y relación fuente-destino en maíz en ambientes contrastantes en nitrógeno

RESUMEN

Existe una creciente necesidad de hacer un uso más eficiente de los insumos, principalmente de aquellos con riesgo asociado de contaminación ambiental como es el caso del nitrógeno (N). Esto conlleva el análisis en ambientes sub-óptimos en cuanto a disponibilidad del nutriente; sin embargo, son escasos los estudios que consideran el control genético de la determinación del rendimiento en dichos ambientes, y más escasos aún los orientados a los rasgos fisiológicos que modulan la expresión del componente del rendimiento identificado como peso individual del grano (PG). El objetivo de esta tesis fue *estudiar los mecanismos fisiológicos y genéticos subyacentes de la expresión del PG en maíz en ambientes contrastantes en disponibilidad de N*. Se analizaron los componentes fisiológicos del PG en experimentos a campo sobre un conjunto de líneas endocriadas de distinto origen y sus híbridos derivados, utilizando un diseño de cruzamientos dialélico completo. El efecto del nivel de N sobre el PG estuvo mediado por cambios en la relación fuente-destino durante el llenado efectivo, producto de la alta respuesta del crecimiento por planta en post-floración a la oferta de N. Dicha respuesta se observó en los híbridos pero no en las líneas, probablemente debido a un efecto de depresión por endogamia asociado a un bajo PG potencial. La proporción de efectos génicos aditivos (*i.e.* heredables) fue mayor para los componentes fisiológicos del PG que para el PG *per se*, y a su vez dicha proporción se incrementó en la condición de baja oferta de N para casi todos los atributos. Estos resultados evidencian, por un lado, la importancia en el uso de los caracteres secundarios con el fin de mejorar el PG, y por el otro, que la selección en ambientes restrictivos en N se realizaría sobre una base mayor de efectos genéticos predecibles. El PG se asoció genéticamente en forma directa con (i) sus dos principales componentes, *i.e.* tasa y duración de llenado, prevaleciendo la vía aditiva con la tasa y la no aditiva con la duración; (ii) la relación fuente-destino alrededor de floración vía efectos aditivos; y (iii) con el crecimiento por planta durante el llenado mediante efectos no aditivos. A su vez, ambos componentes del rendimiento en grano (*i.e.* número y peso) se correlacionaron genéticamente entre sí de manera negativa y vía efectos aditivos. Las diferencias en los mecanismos genéticos de asociación de los atributos con el PG poseen implicancias importantes respecto de su aplicación en el mejoramiento, sobre todo en lo referido al momento apropiado para ser considerados dentro de las distintas etapas del proceso de mejora.

Palabras clave: *Zea mays* (L.), peso de la semilla, partición de biomasa, nitrógeno, efectos génicos, líneas endocriadas, híbridos.

Genetic and physiological mechanisms responsible for maize kernel weight and source-sink relationship under contrasting nitrogen supply levels

ABSTRACT

Agricultural production is requesting for the use of increasingly efficient inputs, especially those with high environmental pollution-risk associated, as in the case of nitrogen (N) fertilization. As a consequence, analyses under N stress conditions are highly desirable; however, the studies based on grain yield genetic control in sub-optimal environments are scarce, particularly those associated to the physiological components responsible for the individual kernel weight determination (KW). The main objective of this thesis was to evaluate the genetic and physiological mechanism underlying maize KW determination under contrasting N availability. The analysis of the physiological determinants of KW was performed on a set of inbred lines from different origin and their derived hybrids, using a complete diallel mating design. Under contrasting N supply, differences in KW were mainly attributable to changes in the source-sink ratio during grain filling as a result of an enhanced post-flowering growth at high N level. This was evident for hybrids but not for inbreds, probably due to the negative inbreeding depression effects on traits controlling seed expansion. The proportion of additive genetic effects (*i.e.* heritable) was greater for secondary traits of KW than for KW itself, and that proportion was increased at low N level for the majority of the traits. These findings highlight, on the one hand, the importance of secondary traits for enhancing KW, and on the other, that the selection under N stress environments would be implemented on the basis of a large proportion of predictable genetic effects. The KW was genetically and directly associated with (i) its two main determinants, *i.e.* the rate and duration of grain filling, being additive effects more important for rate and non-additives ones for duration; (ii) the source-sink relationship around flowering by additive effects; and (iii) the plant growth during grain filling by non-additive effects. The main components of grain yield (*i.e.* kernel number and KW) were negatively correlated to each other in their additive genetic effects. The differences in the genetic mechanisms of association between secondary traits and KW provide useful information to be considered in maize breeding.

Keywords: *Zea mays* (L.), grain weight, source-sink relationship, nitrogen, genetic effects, inbred lines, hybrids.

“Introducción General”

1.1. Presentación del problema y revisión de antecedentes

En maíz (*Zea mays* L.), el rendimiento en grano (RG) aumentó sostenidamente desde la adopción de híbridos, primero dobles y luego simples. Este proceso se inició en la región del cinturón maicero norteamericano hacia 1930, en reemplazo de las variedades de polinización abierta (Russell, 1974). Durante el período 1965-2011 se ha registrado en USA una tasa de ganancia del RG de maíz de 114 kg ha año⁻¹ (Grassini et al., 2013). Por su parte, en la Argentina ocurrió un proceso similar, aunque levemente retrasado en el tiempo, pues la adopción de híbridos comenzó en 1960 (Luque et al., 2006). Dicho proceso dio lugar a una ganancia de RG de ca. 115 kg ha año⁻¹ para el período 1969-2018 (www.siia.gov.ar). Sostener estos niveles de ganancia implica un gran desafío frente a un contexto climático caracterizado por un incremento en la frecuencia e intensidad de eventos meteorológicos cada vez más extremos (IPCC, 2014). El mejoramiento genético y las prácticas de manejo están detrás de estas ganancias, siendo el primero responsable del 50-60% del incremento logrado en el RG (Cardwell, 1982; Duvick, 2005). Las contribuciones genéticas a la mejora en el RG, a su vez, pueden dividirse entre aquellas que confieren una mayor tolerancia al estrés y aquellas que aumentan el RG potencial (Evans y Fischer, 1999). Tanto el mejoramiento como el manejo no hubiesen logrado dichos incrementos de manera independiente, interactuando entre sí positivamente y de manera continua (Duvick, 2005).

Como para la mayoría de los cultivos extensivos, el RG en maíz se encuentra determinado por el número de granos (NG) por unidad de área y el peso individual de los mismos (PG), existiendo en general un efecto compensatorio (generalmente parcial pero no total) entre ambos componentes numéricos (Smith y Fretwell, 1974; Borrás y Otegui, 2001). El NG es el componente que mejor explica las variaciones en RG (Otegui, 1995; Borrás et al., 2004) y el de mayor plasticidad fenotípica, mientras que la plasticidad del PG es mucho menor (Sadras, 2007; D'Andrea et al., 2013; Ruiz et al., 2019), lo que evidencia su condición de rasgo con fuerte control genético (Cross, 1975; Poneleit y Egli, 1979; Hallauer y Miranda, 1988). Sin embargo, se puede observar una gran variación en el RG para un similar NG, lo que indica que cambios en el PG también pueden afectar fuertemente el RG. Así, el PG puede verse limitado por situaciones sub-óptimas o adversas durante el período de crecimiento de los granos, modificando drásticamente el RG final (Borrás et al., 2004). Factores como la sequía (Ouattar et al., 1987a, b), la disponibilidad de asimilados (Borrás y Otegui, 2001), la temperatura (Wilhelm et al., 1999; Rattalino Edreira et al., 2014) o la disponibilidad de nitrógeno (D'Andrea et al., 2006; 2009; Melchiori y Caviglia, 2008), condicionan el crecimiento de los granos y reducen el PG alcanzado.

Dentro de los factores abióticos que afectan el crecimiento y RG del cultivo de maíz, la disponibilidad de nitrógeno (N) es uno de los más importantes (Muchow, 1988). La selección y desarrollo de cultivares superiores en la utilización del N es una manera de reducir el impacto de su deficiencia sobre la producción del cultivo (Lafitte y Edmeades, 1994). Dicha selección requiere del análisis en ambientes sub-óptimos en N, pero tales ambientes no son muy favorables para los mejoradores. En ellos la variabilidad ambiental aumenta, lo que resulta en una disminución de la heredabilidad, disminuyendo el progreso de la selección (Rosielle y Hamblin, 1981). La situación descrita hace aún más necesario el desarrollo de estudios en ambientes usualmente no atendidos por el mejoramiento comercial (i.e. no potenciales), que evalúen la respuesta de los distintos atributos que definen el RG y particularmente aquellos que consideren los rasgos fisiológicos que determinan el PG y el control genético de los mismos.

1.2. Fisiología del peso de grano

1.2.1. Componentes fisiológicos asociados al peso de grano

La determinación del PG puede ser descrita en términos de acumulación de materia seca y contenido de agua (Borrás et al., 2003; Borrás y Gambín, 2010; Fig. 1.1). Los granos en desarrollo acumulan en proporción mucha más agua que reservas en etapas tempranas, y ambos, el contenido de agua en el grano y el patrón de acumulación de materia seca, están fuertemente relacionados. Así, el conocimiento de las relaciones hídricas de la semilla es una herramienta que permite describir y predecir diferencias en el desarrollo del grano debido al genotipo o al ambiente (Gambín et al., 2007).

En términos de acumulación de materia seca (Fig. 1.1A), el crecimiento de la semilla puede explicarse a través de dos atributos principales, la tasa de crecimiento del grano durante su llenado efectivo (TCG) y la duración del llenado (DLLG). Ambos varían independientemente y están asociados con diferentes procesos fisiológicos (Borrás et al., 2009), teniendo la TCG mayor impacto que la DLLG sobre las diferencias en el PG (Borrás y Gambín, 2010). La TCG se asocia positivamente con el número de células endospermáticas y de gránulos de almidón diferenciados en la fase *lag*, que se caracterizan por ser buenos estimadores del PG potencial (Reddy y Daynard, 1983; Capitano et al., 1983; Jones et al., 1996). La fase *lag* comienza durante la fecundación de la semilla y abarca un período relativamente corto (ca. 12-15 días), con poco cambio en la biomasa del grano, que se extiende hasta el inicio de su llenado efectivo, en que el aumento de biomasa se hace mucho más notorio. A su vez, la TCG de distintos genotipos se relaciona con el máximo contenido de agua del grano (MCAG) (Borrás et al., 2003), el cual se establece poco tiempo después de haberse fijado el número de células endospermáticas y gránulos de almidón (ca. 15 días después del fin de la fase *lag*; Fig. 1.1B) (Borrás et al., 2003). Como la división celular es seguida por la expansión de esas células diferenciadas y la acumulación de biomasa, la relación positiva entre el número de células, el contenido de agua y la tasa de acumulación de materia seca en el grano es consistente (Borrás y Gambín, 2010). Así, el MCAG puede ser fácilmente cuantificado y constituye un estimador independiente de la capacidad del grano como destino (Borrás et al., 2003), es decir, del PG potencial.

El máximo volumen del grano (MVG), que integra número y tamaño de células, está fuertemente relacionado con el PG (Millet y Pinthus, 1984; Sala et al., 2007b), y guarda correlación con el MCAG (Egli, 1990; Egli, 2017). A su vez, el MVG depende no sólo del ingreso de agua al grano durante el inicio de su llenado, sino también de la relación entre la dinámica del agua y la acumulación de materia seca en etapas avanzadas del mismo, ya que en general el MVG continúa incrementándose luego de que los granos alcanzan su máximo contenido hídrico (Gambín et al., 2007).

La DLLG depende fuertemente de la producción de asimilados durante el período de llenado efectivo del grano (Kiniry et al., 1992; Andrade y Ferreiro, 1996), acortándose su extensión bajo fuertes limitaciones en la fuente (Egharevba et al., 1976; Jones y Simmons, 1983; Sala et al., 2007a). La DLLG se asocia con la tasa de pérdida de humedad o desecación del grano (TDG, Fig. 1.1B) en el período entre la fecundación del ovario y madurez fisiológica (MF) del grano (Jones y Simmons, 1983; Westgate, 1994). En MF se detiene la acumulación de materia seca en la semilla y se alcanza el PG máximo (Shaw y Loomis, 1950). Así, genotipos con menor DLLG o condiciones ambientales que reduzcan el valor de dicho atributo evidencian una TDG más pronunciada (i.e. con una caída más veloz de la concentración de humedad en el grano) que aquellos con mayor DLLG (Gambín et al., 2007). Pese a estas diferencias, la concentración de humedad en MF (CHMF) se suele asumir como un rasgo relativamente constante de ca. 35% en maíz (Borrás et al., 2003), siendo el mismo un promedio de toda la semilla. No obstante, debido a que distintos tejidos del grano

poseen distintas concentraciones de humedad a MF (Westgate, 1994), se sugiere que genotipos con diferente proporción de pericarpio, embrión, endosperma (i.e. diferente estructura) diferirán en su CHMF (Borrás y Gambín, 2010).

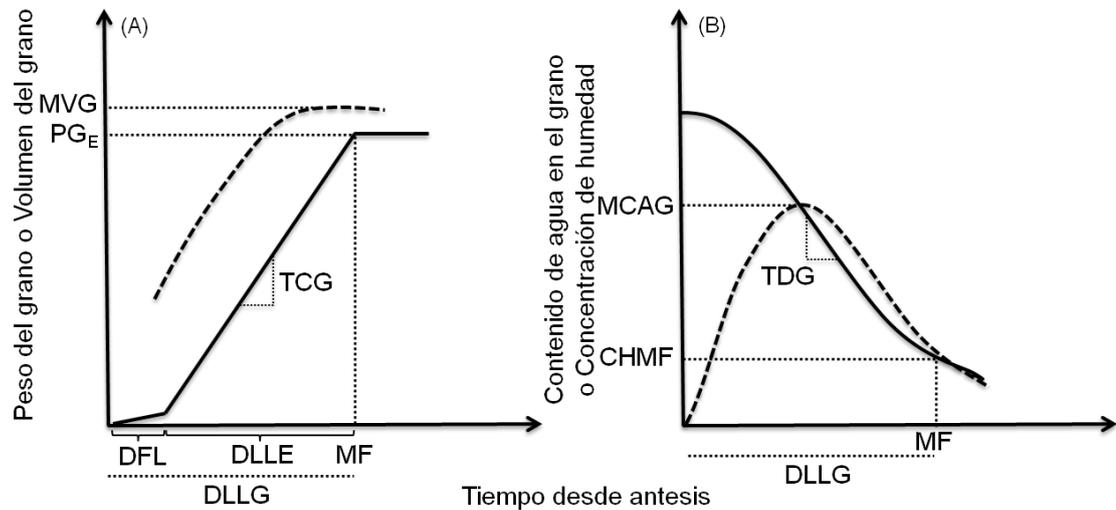


Figura 1.1. Diagrama esquemático de los modelos que describen la dinámica de (A) peso seco (línea llena) y volumen (línea punteada) del grano, y (B) contenido de agua (línea punteada) y concentración de humedad (línea llena) del grano. CHMF: concentración de humedad a madurez fisiológica; DFL: duración de fase *lag*; DLLE: duración del llenado efectivo del grano; DLLG: duración total de llenado del grano; MCAG: máximo contenido de agua del grano; MF: madurez fisiológica; MVG: máximo volumen del grano; PG_E : peso de grano esimado; TCG: tasa de crecimiento del grano; TDG: tasa de desecación de grano.

1.2.2. Relaciones fuente-destino y determinación del peso de grano

Las condiciones de crecimiento durante el período crítico, durante el cual se fija el NG (ca. 30 días alrededor de antesis), afectan la cantidad de asimilados disponibles por grano durante la fase de división celular (i.e. fase *lag*), donde se establece el PG potencial (Capitano et al., 1983; Reddy y Daynard, 1983; Jones et al., 1996; Borrás y Westgate, 2006). En consecuencia, existe una superposición entre ambos períodos (Otegui y Andrade, 2000), lo que implica que en el cultivo el NG y el PG potencial se determinan en el mismo momento (Gambín et al., 2006).

En función de la relación de tipo exponencial con *plateau* existente entre el NG y la tasa de crecimiento por planta durante el período crítico (TCP_{PC}) (Tollenaar et al., 1992; Andrade et al., 1999), se ha propuesto el uso de la tasa de crecimiento por planta por grano fijado alrededor de floración ($TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$) para estimar la disponibilidad de asimilados por grano durante la etapa temprana del llenado. Esta variable es considerada un buen estimador de la relación fuente-destino en post-floración (Gambín et al., 2006). A causa de la relación curvilínea descrita anteriormente, se hipotetizó que la $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$ se incrementaría con el aumento de la TCP_{PC} . Sin embargo, se encontraron diferencias genotípicas en los patrones de respuesta de estos atributos (Gambín et al., 2008). Debido a que diferencias en el PG potencial están relacionadas con diferencias en la TCG durante el llenado efectivo, existe una correlación positiva entre la $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$ y la TCG (Gambín et al., 2006). Por el contrario, no hay asociación entre el PG o la TCG y la relación fuente-destino durante el período de llenado efectivo (Gambín et al., 2006). Por su parte, genotipos de distinto tipo de grano difieren en sus relaciones fuente-destino alrededor de floración (Tamagno et al., 2016) y durante el llenado efectivo (Severini et al., 2011), lo que se refleja en variaciones en su PG potencial y en

la magnitud de respuesta frente a cambios en las condiciones de crecimiento durante el llenado (Kiniry et al., 1990; Severini et al., 2011).

En muchas condiciones de producción los granos de maíz crecen con una disponibilidad de asimilados cercana o mayor que la requerida para maximizar el PG final, sugiriendo que en los individuos se establece un tamaño de destino potencial que se alcanza a MF si no existen deficiencias de fuente pronunciadas durante el llenado (Borrás et al., 2004). Sin embargo, la respuesta del maíz a las disminuciones de fuente durante esta etapa es muy diferente a la que se registra cuando aumenta la cantidad de asimilados disponibles. El PG disminuye considerablemente frente a reducciones en la cantidad de asimilados disponibles por grano, mientras que no se modifica ante aumentos de la misma (Borrás et al., 2004). La respuesta a reducciones de la fuente ha sido atribuida a la baja eficiencia en el uso de asimilados acumulados en el tallo para el crecimiento directo de la semilla (Kiniry et al., 1992). En relación a otros cultivos extensivos como el trigo, la eficiencia del maíz en la producción de biomasa de granos a partir de reservas de la planta es aproximadamente tres veces inferior (0,74 vs. 0,26 g de grano g^{-1} carbohidrato acumulado, respectivamente) (Kiniry et al., 1992; Borrás et al., 2004). Sin embargo, estudios recientes han demostrado que el cultivo de maíz puede hacer un uso elevado de reservas durante el llenado de los granos (D'Andrea et al., 2016) y, aunque su principal destino estaría ligado a procesos de mantenimiento (Kiniry et al., 1992), se pueden volver críticas en condiciones de estrés (Kiniry et al., 1992; Rattalino Edreira y Otegui, 2013).

1.2.3. Respuesta del peso de grano y la relación fuente-destino a la disponibilidad de nitrógeno

El N es uno de los macronutrientes que más limita el RG en maíz, variando ampliamente tanto el crecimiento general del cultivo como particularmente su RG en respuesta a la disponibilidad de este nutriente (Uhart y Andrade, 1995a). En la actualidad, los programas de mejora son llevados a cabo en ausencia de restricción de N, utilizándose altas densidades de plantas como un sucedáneo para la selección de líneas tolerantes a baja disponibilidad de N, sugiriéndose la tolerancia a altas densidades como una estrategia para mejorar la tolerancia a estreses abióticos tales como sequía y baja disponibilidad de N (Edmeades et al., 1993; Vasal et al., 1997; Monneveux et al., 2005). Sin embargo, la mejora en ausencia de restricción de N podría resultar en la pérdida de rasgos adaptativos a ambientes con escasa disponibilidad de este nutriente (Lafitte et al., 1997). En este sentido, el mejoramiento de cultivares de maíz con alto RG bajo deficiencia de N podría reducir los impactos negativos del exceso de este nutriente sobre el ambiente, así como incrementar la eficiencia económica del uso de fertilizantes nitrogenados.

La disponibilidad de N afecta los caracteres fisiológicos que determinan el RG en maíz; e.g. los que condicionan la intercepción de luz, su conversión en biomasa, y la partición de esta última entre órganos de la planta. Esto se ha registrado tanto en híbridos (Lemcoff y Loomis, 1986; Jacobs y Pearson, 1991; 1992; Uhart y Andrade, 1995b; Rajcan y Tollenaar, 1999; Monneveux et al., 2005; D'Andrea et al., 2008; Ciampitti y Vyn, 2011) como en líneas endocriadas (Monneveux et al., 2005; D'Andrea et al., 2006; 2009), que a su vez pueden diferir en su respuesta a la disponibilidad de N (D'Andrea et al., 2009; Munaro et al., 2011a). Los caracteres mencionados explican principalmente las variaciones en el componente numérico más importante del RG (i.e. el NG), siendo escaso el conocimiento de las bases fisiológicas de las variaciones observadas en el PG en condiciones contrastantes de disponibilidad de N.

Debido a la alta respuesta del NG por planta (NGP) a la TCP_{PC} (Andrade et al., 2002), disminuciones en esta última, mediante efectos directos de la restricción en la oferta de N resultan en una disminución pronunciada del NGP (Uhart y Andrade, 1995b). Esto da lugar a una relativa estabilidad del cociente TCP_{PC} -NGP (Sadras, 2007), i.e. a una relativa estabilidad de la relación fuente-destino alrededor de la floración (i.e. TCP_{PC} grano⁻¹) frente a cambios en la disponibilidad de N. Por el contrario, bajo déficit de N durante el período de llenado efectivo del grano, se produce un aumento en el N removilizado debido a una menor duración del área foliar (Rajcan y Tollenaar, 1999; He et al., 2005), lo que resulta en una caída más pronunciada de la relación fuente-destino en dicho período (Uhart y Andrade, 1995a).

Respecto de los principales determinantes fisiológicos del PG (i.e. TCG, DLLG), se observó un efecto de la disponibilidad de N mayor sobre la DLLG que sobre la TCG (Monneveux et al., 2005). Este resultado sugiere que, en lo que a determinación del PG se refiere, la competencia entre los granos por asimilados ocurre principalmente durante las últimas fases de su llenado (Poneleit y Egli 1979; Monneveux et al., 2005), aunque los efectos sobre su calidad (Borrás et al., 2002) comenzarían mucho antes, dependiendo del nivel de deficiencia de N (Uhart y Andrade, 1995b). Por su parte, Melchiori y Caviglia (2008) reportaron efectos positivos del incremento en la oferta de N sobre el PG potencial, ya que los valores de atributos asociados con el tamaño potencial del grano, como el MCAG y la TCG, aumentaron con el nivel de N.

1.3. Mejoramiento genético del peso de grano y sus componentes fisiológicos en maíz

El mejoramiento genético convencional, mediante la selección directa de un rasgo primario (e.g. RG) en un ambiente (A) objetivo (mejoramiento directo) (Ceccarelli y Grando, 1996), es el responsable de gran parte del progreso genético para RG en la mayoría de los cereales. Aún así, este atributo posee herencia de tipo cuantitativa bajo control multigénico, bajos valores de heredabilidad, y una interacción genotipo \times ambiente ($G \times A$) alta (Jackson et al., 1996), presentando una estructura genética compleja. Las limitaciones del mejoramiento tradicional son más evidentes aún cuando se selecciona por adaptación a ambientes sub-óptimos (e.g. déficit hídrico, baja disponibilidad de nutrientes), debido a la elevada variabilidad intra-sitio existente, lo que afecta negativamente la heredabilidad (Richards, 1996; Araus et al., 2002). Dichos ambientes, generalmente evitados por los mejoradores, dificultan el proceso de selección (Baenziger et al., 2006), ya que se espera que exista una disminución en la tasa de ganancia genética lograda (Duvick, 2005), o bien mayores esfuerzos para sostener los niveles de ganancia. El método de selección indirecta, mediante caracteres secundarios medidos en los ambientes objetivo (i.e. fenotipado), aparece como una opción. Dichos caracteres suelen estar sujetos a menor variabilidad ambiental, y expresan en consecuencia valores de heredabilidad relativamente más altos. No obstante, como el requisito a cumplir para incluir un rasgo secundario en un índice de selección es que el producto entre su heredabilidad y su correlación con el RG supere a la heredabilidad del RG (Falconer y Mackay, 1996), los casos de éxito han sido muy pocos (Bänziger et al., 1997).

El incremento en el RG de los híbridos a través del tiempo fue el resultado de ganancias en heterosis como así también de ganancias en “no heterosis” (Tollenaar y Lee, 2002), obtenidas directamente por la mejora *per se* de las líneas parentales (Duvick, 1999). Entre los rasgos que se modificaron con el advenimiento de nuevos híbridos se observa (i) una disminución del tamaño de panojas, reduciéndose la dominancia apical e incrementándose la partición de biomasa a espiga; (ii) un hábito

foliar más erectófilo, otorgando mayor tolerancia al aumento de la densidad; y (iii) una mayor acumulación de biomasa durante el período post-floración, resultado de una disminución en la tasa de senescencia foliar y de un mayor *stay green* funcional durante el llenado (Tollenaar, 1991; Cooper et al., 2004; Duvick, 2005).

En Argentina, el mayor RG de los híbridos modernos estuvo principalmente relacionado con un incremento en el índice de cosecha (IC) (Echarte y Andrade, 2003), NGP (Luque et al., 2006), partición de biomasa a espiga en floración (Echarte et al., 2004; Luque et al., 2006), y producción de biomasa durante el período de llenado de los granos (Luque et al., 2006). El mayor RG alcanzado como resultado de un mayor NGP no estuvo acompañado de reducciones en el PG, debido a una mayor producción de biomasa durante el llenado de los granos. Esto mantuvo estable la relación fuente-destino durante dicha etapa, evitándose la posibilidad de una compensación (*trade-off*) entre NG y PG (Luque et al., 2006). En relación a los rasgos relacionados con el PG y su composición, se observa que los híbridos más modernos poseen una mayor duración del período de llenado, menor porcentaje de proteína, y mayor concentración de almidón en grano (Duvick, 2005; Ciampitti y Vyn, 2012). Debido a que la síntesis de almidón requiere menor energía que la de proteína, la selección por RG ha ejercido una presión positiva hacia un mayor contenido de almidón en grano (Duvick, 2005).

A los fines del mejoramiento, no sólo importará comprender la arquitectura fisiológica del PG, entendiendo a ésta como las interrelaciones existentes entre los procesos fisiológicos asociados que resultan en un aumento del mismo, sino principalmente su expresión a través de la arquitectura genética del PG. Esta última es el resultado de los efectos génicos de naturaleza aditiva y no aditiva (Cooper et al., 2009), los cuales pueden ser caracterizados a través de la determinación de los niveles de heredabilidad, heterosis y aptitud combinatoria. En este sentido, existen pocos estudios que profundicen sobre la arquitectura genética de los atributos que definen el PG, siendo inexistentes aquellos llevados a cabo en condiciones limitantes de N.

1.3.1. Efectos génicos asociados a los componentes fisiológicos del peso de grano y relación fuente-destino en etapas reproductivas

En maíz, el principal objetivo del mejoramiento genético consiste en identificar y reproducir híbridos superiores en RG y estabilidad para un ambiente objetivo (Bernardo, 2002). Cualquier información de la línea parental que permita predecir el desempeño de su progenie es altamente deseable pues reduce la necesidad de llevar adelante cruzamientos y posterior análisis de la progenie híbrida (Betrán et al., 2003a). El comportamiento de una línea endocriada está correlacionado con su desempeño en combinaciones híbridas según qué proporción de la varianza genética se deba a la acción de genes de efecto aditivo (Falconer y Mackay, 1996). Los efectos aditivos son la porción predecible de los efectos genéticos y, por lo tanto, los más usados por los mejoradores en el proceso de selección.

En 1909 Shull delineó las dos etapas principales en el desarrollo de híbridos, vigentes aún hoy en los programas de mejoramiento de maíz. La primera corresponde al desarrollo de líneas endocriadas y la segunda a la identificación de las mejores combinaciones de líneas parentales para producir híbridos superiores. Respecto de esta última, distintos diseños de cruzamientos (dialélico, factorial, *North Carolina I* y *II*) se usan para evaluar genéticamente los componentes de la varianza total, siendo ampliamente usado en maíz el análisis dialélico. El mismo no sólo permite estudiar el modo de herencia de un carácter complejo (Hayman, 1954), sino que además constituye una herramienta para mejoradores interesados en evaluar la aptitud combinatoria de las líneas endocriadas (Griffing, 1956). El análisis de habilidad combinatoria de las líneas

determina la utilidad de las mismas para la producción de híbridos, y es un concepto general que considera la clasificación de una línea relativa a su comportamiento en distintos cruzamientos (Hallauer y Miranda, 1988).

Sprague y Tatum (1942) fueron los primeros en particionar la aptitud combinatoria en (i) general (ACG), y (ii) específica (ACE). La ACG se refiere al comportamiento promedio de una línea parental en las combinaciones de sus híbridos, y se asocia con la presencia de genes de efecto aditivo. La ACE se refiere al valor de aquellas combinaciones híbridas particulares en relación al comportamiento promedio de las líneas parentales involucradas. La ACE es indicativa de la presencia de genes de efecto no aditivo. Las estimaciones de ACG y ACE permiten caracterizar la varianza genética total, cuantificando la magnitud de los efectos génicos. Ambas son relativas al (y dependen del) conjunto de genotipos evaluados en los *test* de progenie híbrida (Hallauer y Miranda, 1988). Todos los aspectos generales descritos para la producción y evaluación de híbridos de maíz, usualmente aplicados al análisis del RG y caracteres “defensivos” (i.e. tolerancia a enfermedades, vuelco, quebrado) por las empresas semilleras, pueden ser también aplicados al estudio de los rasgos secundarios (e.g. determinantes fisiológicos del RG), aunque los casos documentados son muy pocos (Lee et al., 2005).

Como se comentó anteriormente (sección 1.3), el método de selección indirecta basado en el uso de caracteres secundarios, resulta ventajoso sobre el método tradicional (i.e. selección directa) cuando existe una alta correlación genética entre el atributo primario (e.g. RG) y el rasgo secundario. El mérito de la selección indirecta respecto de la directa dependerá no sólo de la heredabilidad de cada atributo sino también de cuán alta es la correlación entre sus efectos aditivos (Falconer y Mackay, 1996). De allí radica la importancia de conocer la correlación entre los efectos de ACG correspondientes a los procesos fisiológicos y el PG. Dicho atributo, al igual que sus dos determinantes principales (i.e. TCG y DLLG) han expresado valores medios a altos de heredabilidad (Soleri y Smith, 2002; Sadras, 2007; Alvarez Prado et al., 2013a, b). La variabilidad genética para esos atributos está principalmente asociada con efectos génicos aditivos (Cross, 1975; Poneleit y Egli, 1983; Wang et al., 1999; Katsantonis, 1986; Josue y Brewbaker, 2018).

En general, las estimaciones de heredabilidad para el PG de los cultivos son altas respecto a las del NG y rasgos relacionados con el crecimiento de la planta (Sadras y Slafer, 2012). En el período crítico, las plantas establecen el NG en función de las condiciones de crecimiento, minimizando la variabilidad en el tamaño de los granos (Sinclair y Jamieson, 2006; Sadras, 2007; Gambín y Borrás, 2010). De esta manera, no sorprende encontrar alta correlación entre las líneas parentales y sus híbridos derivados para el PG (D’Andrea et al., 2013; Alvarez Prado et al., 2013a), y los caracteres fisiológicos que lo determinan (Alvarez Prado et al., 2013a). En este sentido, se observó preponderancia de efectos no aditivos para la TCP_{PC} (Munaro et al., 2013), pese a que los efectos aditivos resultaron más importantes para los componentes fisiológicos asociados con el tamaño del canopeo y la eficiencia en el uso de la radiación (Mason y Zuber, 1976; Ahmadzadeh et al., 2004; Lee et al., 2005; Munaro et al., 2013). Asimismo, se ha reportado una mayor proporción de efectos aditivos en relación a la varianza genética total para senescencia foliar o *stay green* (Lee et al., 2005; Worku et al., 2008), los cuales resultan importantes en el crecimiento por planta en post-floración. No obstante, no existen reportes acerca del modo de herencia de los atributos de partición de biomasa durante el período crítico y el llenado efectivo de los granos, los cuáles inciden directamente en la determinación de los componentes del RG.

Tanto la magnitud como la naturaleza de los efectos génicos, estimados a partir de datos fenotípicos, no son constantes a través de ambientes. La heredabilidad decrece con el aumento de la plasticidad fenotípica a causa de los efectos ambientales, condición que penaliza el progreso de selección (Bänziger y Lafitte, 1997). Es sabido que la ACG y la ACE pueden interactuar con el ambiente (Rojas y Sprague, 1952; Matzinger et al., 1959), por lo que el análisis dialélico debe ser llevado a cabo en más de un ambiente con el fin de obtener estimaciones confiables de los efectos de aptitud combinatoria. Desde el punto de vista de un mejorador, es de interés conocer la magnitud de las interacciones ACG×A. En este sentido, si ya son escasos los estudios basados en diseños dialélicos que evalúen algún determinante fisiológico del peso de grano, mucho más lo son aquellos desarrollados en ambientes contrastantes, e.g. por niveles de N y/o agua. Esto permitirá analizar de manera robusta la naturaleza de los efectos genéticos preponderantes para el PG, las asociaciones genéticas entre sus determinantes fisiológicos, y las interacciones entre los componentes de aptitud combinatoria y el ambiente (AC×A) para los atributos bajo estudio.

1.3.2. Heterosis para componentes fisiológicos del peso de grano y su relación con el ambiente explorado

El concepto de heterosis, definido por Shull (1952), establece la superioridad en el desempeño del híbrido F₁ respecto del de sus líneas parentales endocriadas. Múltiples teorías genéticas han sido propuestas para interpretar los mecanismos detrás de la heterosis, destacándose las hipótesis de (i) dominancia, y (ii) sobredominancia. La primera, se basa en la acumulación de genes dominantes favorables en el híbrido, los cuales enmascaran los alelos recesivos deletéreos (Davenport, 1908; Bruce, 1910; Keeble y Pellew, 1910). Por su parte, la teoría de sobredominancia se sustenta en la superioridad de la combinación alélica heterocigota respecto de aquella homocigota (Shull, 1908; East, 1908). Ambas teorías requieren de la existencia de diferencias en las frecuencias alélicas o “diversidad genética” (Bruce, 1910; Falconer, 1996), usualmente expresada como la distancia genética entre los progenitores. Existe una asociación positiva entre dicha distancia y el nivel de heterosis observado (Melchinger et al., 1990; Smith et al., 1991). Sin embargo, la presencia de gran diversidad genética no sería un requisito indispensable para la expresión de la heterosis, ya que también se han observado niveles significativos de heterosis para RG en híbridos resultantes de líneas progenitoras fuertemente emparentadas entre sí (Lee et al., 2007).

El RG en maíz experimentó un incremento pronunciado con la explotación de la heterosis a través del desarrollo de híbridos, inicialmente dobles y luego simples (Crow, 1998). No sólo el RG, sino un amplio rango de atributos exhibe heterosis en maíz, pero su magnitud es altamente variable dependiendo de los parentales elegidos y del rasgo evaluado (Springer y Stupar, 2007). Entre los rasgos asociados con heterosis para RG en maíz se encuentra la heterosis para NG, índice de área foliar máximo, *stay green*, producción de biomasa en post-floración, e IC (Ahmadzadeh et al., 2004; Tollenaar et al., 2004; 2006; Echarte et al., 2004; D`Andrea et al., 2009; Munaro et al., 2011a). Se ha reportado heterosis para el PG y sus atributos fisiológicos asociados (Poneleit y Egli, 1979; 1983; Munaro et al., 2011a; Alvarez Prado et al., 2013a; Josue y Brewbaker, 2018), estando la heterosis para PG principalmente relacionada con aquella para DLLG (Daynard et al., 1971; Poneleit y Egli, 1979; Alvarez Prado et al., 2013a). Los mecanismos detrás de la heterosis para DLLG tendrían que ver con una alta capacidad para mantener la actividad de la fuente respecto al crecimiento de los destinos, y una menor TDG y CHMF de los híbridos en relación a las líneas (Alvarez Prado et al., 2013a).

La heterosis es una variable dinámica influenciada por el ambiente, y depende además del atributo evaluado, así como también del estado de desarrollo del cultivo (Hoffmann y Parsons, 1991; Tollenaar et al., 2004; Lippman y Zamir, 2007). En este sentido, el patrón de respuesta de los niveles de heterosis a condiciones de crecimiento limitantes (alta densidad, déficit de nutrientes, déficit hídrico, etc.) dependerá del tipo de estrés en cuestión (Hoffmann y Parsons, 1991). La magnitud de la heterosis en términos porcentuales aumenta bajo déficit hídrico (Betrán et al., 2003b, c), alta densidad de plantas (Liu y Tollenaar, 2009b), y exceso hídrico (Zaidi et al., 2007); mientras que, por el contrario, tiende a disminuir en condiciones de déficit de N (Betrán et al., 2003b, c; Munaro et al., 2011a). Esto se debe a que las restricciones en el crecimiento impuestas por la endogamia *per se* implican una menor demanda de nutrientes para las líneas (D'Andrea et al., 2009; Munaro et al., 2011a), lo que resultaría en diferentes niveles de estrés entre grupos y consecuentemente en una respuesta diferencial a los cambios en el ambiente. Asimismo, el RG está asociado con distintos componentes fisiológicos en sus niveles de heterosis dependiendo del tipo de estrés: (i) IC en alta densidad (Liu y Tollenaar, 2009b); (ii) producción de biomasa en condiciones de baja irradiancia (Liu y Tollenaar, 2009a); y (iii) PG y eficiencia de uso de la radiación alrededor de floración bajo condiciones de déficit de N (Munaro et al., 2011a).

Por su parte, Munaro et al. (2011b) reportaron para el RG y sus atributos fisiológicos una relación positiva entre los niveles de heterosis absoluta y la calidad del ambiente (i.e. índice ambiental), como resultado de la respuesta diferencial de líneas e híbridos a los cambios en el ambiente explorado, aunque esta tendencia no sería la misma en términos de heterosis porcentual. Como demuestra Duvick (1999) la heterosis de híbridos F1 ha tendido a disminuir cuando se expresa en términos porcentuales. En la actualidad, es escaso el conocimiento de la respuesta de los niveles de heterosis a cambios en la disponibilidad de N para el PG y sus determinantes fisiológicos.

1.4. Objetivos e Hipótesis

1.4.1. Objetivo General

El objetivo general consiste en estudiar las bases fisiológicas y genéticas que controlan el PG en maíz en ambientes contrastantes en disponibilidad de N, y que difieren en sus niveles de radiación incidente y temperatura. Esto incluye el análisis de los principales componentes fisiológicos del PG, y de las relaciones de partición de biomasa (relación fuente-destino) durante el período crítico y el llenado efectivo del grano. Se llevarán a cabo estudios a campo tendientes a cuantificar la varianza genética y sus componentes (i.e. varianza aditiva y no aditiva) para un conjunto de rasgos ecofisiológicos en genotipos diversos (líneas endocriadas y sus híbridos derivados). Del objetivo general se desprenden tres objetivos e hipótesis particulares.

1.4.2. Objetivos e hipótesis particulares

Objetivo 1. Evaluar la respuesta del PG a disponibilidades de N contrastante sobre la relación fuente-destino durante el período crítico y el llenado efectivo. Caracterizar dichas respuestas en distintos grupos genotípicos (i.e. líneas endocriadas e híbridos).

Hipótesis 1. El efecto de la disponibilidad de N sobre el PG está asociado principalmente con cambios en la relación fuente-destino durante el llenado efectivo. Al mismo tiempo, los híbridos tienen un mayor crecimiento por planta en post-floración, en respuesta a la disponibilidad de N, respecto de las líneas; lo que determina que las diferencias entre líneas e híbridos en sus valores de asimilados disponibles por grano sean mayores durante el período de llenado efectivo.

Objetivo 2. Analizar para los atributos evaluados la variabilidad de los componentes genético (G), ambiental (A) e interacción $G \times A$, y su heredabilidad. A su vez, analizar la naturaleza de los efectos genéticos (i.e. aditivo y no aditivo) a lo largo de distintos ambientes, dados por disponibilidad de N contrastante (alto y bajo contenido de N) y variabilidad interanual (radiación incidente, temperatura).

Hipótesis 2. En condiciones potenciales se maximiza la expresión de los efectos génicos no aditivos, lo que se traduce en incrementos en la magnitud del componente de ACE y en los niveles de heterosis. Por el contrario, en ambientes sub-óptimos, menos favorables para la expresión de los efectos no aditivos, aumenta la proporción de la varianza génica aditiva respecto de la varianza genética total.

Objetivo 3. Caracterizar a las líneas en cuanto a su aptitud combinatoria, y determinar el grado de correlación entre el valor *per se* de las líneas y su aptitud combinatoria general. Analizar los patrones de asociación genética directa e indirecta de los efectos aditivos y no aditivos para las variables fisiológicas determinantes del peso del grano en maíz.

Hipótesis 3. Es posible identificar patrones de asociación genética directos e indirectos entre el peso de grano y sus determinantes fisiológicos, cuantificando para dichos caracteres la importancia del tipo de acción génica preponderante para el logro de altos pesos de grano. Genotipos que expresen elevada aptitud combinatoria para dicho atributo también la expresarán para alguno/s de sus componentes fisiológicos.

1.5. Estructura de la tesis

Para cumplir con los objetivos propuestos y poner a prueba las hipótesis planteadas se llevaron a cabo 4 experimentos (Exps.) a campo. En el capítulo 2 (Exps. 1-4) se evaluó la respuesta del PG y de la partición de biomasa durante el período reproductivo a la disponibilidad de N, para un conjunto de seis líneas endocriadas y sus híbridos derivados (30 en total). En dicho capítulo se puso a prueba la hipótesis 1, a la vez que se cumplió con el objetivo 1.

En el capítulo 3 (Exps. 3 y 4) se cuantificó, para el PG, sus atributos fisiológicos y las relaciones de partición de biomasa durante las etapas reproductivas, la variabilidad disponible, la magnitud de los efectos génicos, y la proporción relativa de dichos efectos génicos (i.e. aditivo y no aditivo), así como su respuesta a lo largo de distintos ambientes. Dichos ambientes estuvieron caracterizados por disponibilidad de N contrastante, y variabilidad natural en las condiciones de temperatura del aire y radiación incidente exploradas. El análisis se realizó sobre 30 híbridos derivados del cruzamiento de seis líneas endocriadas utilizando un diseño de cruzamientos dialélico completo. Aquí se cumplió con el objetivo 2 y se evaluó la hipótesis 2.

Por último, en el capítulo 4 (Exps. 3 y 4) se analizó, para los mismos atributos, material genético e igual diseño genético que en capítulo 3, la aptitud combinatoria de las líneas parentales, y el grado de correlación de su fenotipo con su aptitud combinatoria. Además, se analizaron los patrones de asociación genética entre los rasgos, así como la consistencia de dichas asociaciones a lo largo de ambientes contrastantes en N. En este capítulo se puso a prueba la hipótesis 3 y se cumplió con el objetivo 3.

La tesis concluye con el capítulo 5, en el cual se integran los hallazgos principales, sus implicancias respecto de lo conocido hasta el momento, y los desafíos para investigaciones futuras.

“Relación fuente-destino y peso de grano en líneas e híbridos de maíz: Respuesta a niveles de nitrógeno contrastantes”¹

¹ Parte de los resultados han sido publicados en Hisse, I.R., D'Andrea, K.E., Otegui, M.E. 2019. *Source-sink relations and kernel weight in maize inbred lines and hybrids: Responses to contrasting nitrogen supply levels*. *Field Crops Res.*, 230:151–159.

2.1. Introducción

El peso de grano en maíz (*Zea mays*, L.) está determinado por la disponibilidad de asimilados por grano en dos periodos durante la post-floración. El primero corresponde al llenado de grano temprano (i.e. fase *lag*), donde el número y peso potencial de los granos se definen conjuntamente (Cap. 1). El segundo es el período de llenado efectivo, donde se establece el PG final (Cap. 1). Como ya se describiera en el Capítulo 1, en ausencia de restricciones ambientales los granos de maíz crecen bajo suficiencia en el aporte de asimilados. Así, variaciones en el PG dependen sobre todo de la disponibilidad de asimilados por grano (i.e. relación fuente-destino) durante la fase *lag*. Sin embargo, fuertes limitaciones en la fuente en la etapa posterior (i.e. durante el llenado efectivo) disminuyen la capacidad de la planta para proveer asimilados a los granos en crecimiento, lo que limita el logro del PG potencial definido previamente. Condiciones restrictivas durante el llenado (déficit hídrico, nutricional, estrés térmico) afectan negativamente el crecimiento de los granos y reducen el PG final. La disponibilidad de nutrientes, principalmente de N, resulta de particular interés debido a su gran influencia sobre el crecimiento del cultivo y sus componentes del rendimiento, (i.e. NG y PG). En este sentido, en el presente capítulo se evaluará el efecto de la disponibilidad de N sobre la determinación del PG a través de los cambios en la relación fuente-destino durante el llenado de los granos.

La tasa de crecimiento por planta por grano durante el período crítico (TCP_{PC} grano⁻¹) permite estimar la disponibilidad de asimilados por grano durante la fase *lag* y, por lo tanto, el PG potencial (Cap. 1). Así, variaciones en el PG final están explicadas sobre todo por cambios en la TCP_{PC} grano⁻¹, sin un efecto claro de la oferta de asimilados por grano durante el llenado efectivo. Los granos de maíz son altamente dependientes de la producción actual de asimilados, debido a la reducida capacidad de la planta para usar los carbohidratos acumulados en pre-floración (i.e. reservas) directamente para el crecimiento de la semilla (Kiniry et al., 1992). Además, un mayor número de granos usualmente implica un aumento en el uso de reservas (D'Andrea et al., 2016), las cuales se asocian a un mayor requerimiento de mantenimiento, evitando posibles compensaciones entre ambos componentes del rendimiento. Como resultado, el PG final disminuye drásticamente ante restricciones en el crecimiento de los granos durante el llenado efectivo (Borrás et al., 2004). En consecuencia, es esperable que la disponibilidad de asimilados por grano durante el llenado efectivo resulte crítica para la determinación del PG en condiciones sub-óptimas, como las producidas por reducciones en los niveles de radiación incidente (Uhart y Andrade, 1995a) o estrés térmico (Rattalino Edreira et al., 2014).

La caída en la TCP_{PC} por efecto directo del déficit de N resulta en una menor fijación de granos (Uhart y Andrade, 1995b). Asimismo, la alta dependencia del NGP a la TCP_{PC} (Andrade et al., 2002) se traduce en una alta estabilidad del cociente TCP_{PC} -NGP (Sadras, 2007); como consecuencia, es probable que dicho cociente permanezca relativamente estable frente a cambios en la oferta de N. Durante el período de llenado efectivo, una alta oferta de N implica una mayor duración del área foliar (Rajcan y Tollenaar, 1999; He et al., 2005) producto de los bajos niveles del N removilizado desde los órganos vegetativos (Ciampitti y Vyn, 2012). Por lo tanto, un mayor período de acumulación de materia seca durante el llenado activo de los granos implica que tanto la producción de biomasa como la relación fuente-destino aumenten en el llenado efectivo, ya que se espera no existan cambios en el NGP definido previamente. Por el contrario, bajo deficiencia de N, un incremento en el N removilizado (e.g. por un aumento en la senescencia foliar) afecta negativamente la relación fuente-destino durante el período de llenado efectivo (Uhart y Andrade, 1995a).

Los grupos genotípicos (e.g. híbridos y líneas endocriadas) difieren en su RG al igual que en sus determinantes fisiológicos, tanto en condiciones potenciales (Tollenaar et al., 2004; Ahmadzaeh et al., 2004) como en respuesta a la variación en la oferta de N (D'Andrea et al., 2009; Munaro et al., 2011a). La superioridad de los híbridos en relación a sus líneas parentales (i.e. heterosis) para rendimiento es mayor con alta disponibilidad de N. Esto se debe a que las restricciones en el crecimiento impuestas por la endogamia *per se* implican una menor demanda de nutrientes para las líneas (D'Andrea et al., 2009; Munaro et al., 2011a), lo que resultaría en diferentes niveles de estrés entre grupos y consecuentemente en una respuesta diferencial a los cambios en el ambiente. En consecuencia, el efecto de la disponibilidad de N sobre el PG, mediado por los cambios en la relación fuente-destino durante el llenado del grano, sería distinto entre líneas e híbridos.

Los objetivos de este capítulo son (i) evaluar si las relaciones fuente-destino establecidas durante el llenado, i.e. la tasa de crecimiento de la planta por grano durante el período crítico (TCP_{PC} grano⁻¹) y el crecimiento de la planta por grano durante el llenado efectivo (CP_{PLLE} grano⁻¹), varían dependiendo de la condición de N y cómo esto afecta al PG; y (ii) analizar si la respuesta del PG a los cambios en dichas relaciones fuente-destino varía entre grupos genotípicos (i.e. híbridos y líneas endocriadas).

2.2. Materiales y Métodos

2.2.1. Material genético

El material genético usado incluyó un total de 36 genotipos de maíz organizado en dos grupos genotípicos (GG), híbridos y líneas. Los 30 híbridos se originaron a partir del cruzamiento entre todas las combinaciones posibles (i.e. directo y recíproco) de seis líneas endocriadas de diverso fondo genético (Cuadro 2.1). Dicho fondo incluyó una línea pública americana dentada (B100; Hallauer et al., 1995), y cinco líneas desarrolladas por el programa de mejoramiento de maíz del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Pergamino, de las cuales una es semi-flint (LP2) y cuatro son flints (LP561, LP611, LP662 y ZN6). Las líneas usadas difieren en su época de mejoramiento, origen, características del canopeo, y rendimiento y sus componentes (D'Andrea et al., 2006).

Cuadro 2.1. Descripción de las líneas endocriadas.

Línea endocriada	Año de liberación	Tipo de grano	Fondo genético	Origen
B100	1993	Amarillo dentado	A partir de la cruce B85 × H99, y luego retrocruza por H99. Selección por pedigree dentro de la retrocruza.	Iowa-USA
ZN6	1959	Duro	A partir de una población colorada dura.	INTA Pergamino
LP662	1994	Anaranjado duro	Familia P465. A partir de cultivares sintéticos.	INTA Pergamino
LP611	1995	Anaranjado duro	Familia P465. A partir de cultivares sintéticos. Selección recurrente de P465 × cultivares resistentes a roya.	INTA Pergamino
LP561	1996	Colorado duro	Familia caribeña argentina. A partir de sintética R4PC.	INTA Pergamino
LP2	1999	Amarillo semidentado	A partir de líneas caribeñas × sintética dura argentina.	INTA Pergamino

2.2.2. Manejo del cultivo y diseño experimental

Los experimentos a campo se llevaron a cabo en la Estación Experimental Pergamino del INTA, Argentina (33°56' S, 60°34' O), sobre un suelo Argiudol Típico durante 2002-2003 (Exp. 1), 2003-2004 (Exp. 2), 2013-2014 (Exp. 3), y 2014-2015 (Exp. 4). El material genético usado incluyó todos los genotipos en los Exps. 3 y 4 (seis líneas y 30 híbridos), pero la mitad en los Exps. 1 y 2 (seis líneas y 12 híbridos). El cultivo se sembró el 1-Nov, 9-Oct, 28-Oct y 27-Oct (Exps. 1, 2, 3, y 4, respectivamente). Los tratamientos fueron una combinación factorial de los dos grupos genotípicos (i.e. líneas e híbridos) y dos niveles de N. Dichos niveles incluyeron un control (N0) sin aplicación de N, y una condición de alto N (N1) fertilizado con 400 (Exps. 1 y 2) y 200 kg N ha⁻¹ (Exps. 3 y 4), suministrados como urea en dos aplicaciones iguales, a la siembra y en el estadio de 9 hojas liguladas (V₉; Ritchie et al., 1992).

Se empleó un diseño experimental de parcelas sub-divididas con tres repeticiones, con la condición de N en la parcela principal, el grupo genotípico en la subparcela, y los genotipos individuales en la sub-subparcela (de aquí en adelante denominadas parcelas). Cada parcela tuvo tres hileras, las cuales estaban distanciadas entre sí a 0,7 m y con una longitud de 5,5 m. La densidad fue siempre de 7 plantas m⁻². Se aplicó riego para evitar la ocurrencia de estrés hídrico, manteniendo los estratos superiores del perfil de suelo (ca. 1 m) cerca de capacidad de campo durante la estación de crecimiento. Los experimentos se mantuvieron limpios de malezas, plagas y enfermedades. Los valores diarios de radiación solar global incidente, temperatura media del aire y lluvias se obtuvieron a partir de una estación meteorológica LI-COR 1200 (LI-COR) instalada en el campo experimental. El tiempo térmico acumulado (TT, temperatura base 8°C) se midió a partir de las temperaturas medias del aire diarias desde la siembra en adelante (Ritchie y NeSmith, 1991).

2.2.3. Mediciones

Se marcaron cinco (Exps. 1 y 2) o siete (Exps. 3 y 4) plantas sucesivas en la hilera central de cada parcela en V₃. Sobre dichas plantas se obtuvo (i) la fecha de antesis (al menos una antera visible en la panoja) y *silking* (al menos un estigma visible en la espiga apical); y (ii) la producción de biomasa aérea por planta en V₁₄ (ca. *silking* -15 d) y R₂ (ca. *silking* +15 d). Las plantas marcadas se cosecharon en madurez fisiológica (R₆; capa negra visible en los granos del centro de la espiga) para la obtención del rendimiento en grano por planta (RGP, en g planta⁻¹), número de granos por planta (NGP), peso medio de los granos (PG_M, cociente entre RGP y NGP, en mg grano⁻¹) y biomasa de la planta a cosecha (g planta⁻¹), luego de secar el material en estufa a 70°C hasta peso constante.

La biomasa aérea de cada planta marcada en V₁₄ y R₂ se estimó mediante el uso de modelos alométricos no destructivos basados en la relación entre la biomasa de la planta y las variables morfométricas (Vega et al., 2000; Borrás y Otegui, 2001). Los modelos alométricos se basaron en el volumen de tallo en V₁₄ y R₂, y en el diámetro máximo de la espiga apical en R₂. Las variables morfométricas que permitieron calcular el volumen del tallo fueron la altura de la planta desde el nivel del suelo hasta la lígula visible más alta, y el diámetro del tallo en la base de la planta (promedio del valor máximo y mínimo). Estas mediciones se realizaron en todas las plantas marcadas, y sobre 3-4 plantas adicionales por replica de cada combinación genotipo × nivel de N, las cuales se colectaron para la construcción de los modelos de cada genotipo. Todos los modelos

fueron altamente significativos ($P < 0,001$), con valores de r^2 entre 0,86 y 0,99 para biomasa aérea vegetativa, y entre 0,84 y 0,99 para biomasa de espiga.

Para cada planta marcada, la tasa de crecimiento por planta durante el período crítico (TCP_{PC}) se calculó como el cociente entre la producción de biomasa entre V_{14} y R_2 y el intervalo de TT entre ambos estadíos (Ec. 2.1).

$$TCP_{PC} (\text{mg pl}^{-1} \text{ } ^\circ\text{Cd}^{-1}) = \frac{\text{biomasa estimada en } R_2 (\text{mg pl}^{-1}) - \text{biomasa estimada en } V_{14} (\text{mg pl}^{-1})}{\text{TT en } R_2 (\text{ } ^\circ\text{Cd}) - \text{TT en } V_{14} (\text{ } ^\circ\text{Cd})} \quad (2.1)$$

La tasa de crecimiento por planta por grano durante el período crítico ($TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$) se calculó como el cociente entre la TCP_{PC} y el NGP (Ec. 2.2).

$$TCP_{PC} \text{ grano}^{-1} (\text{mg } ^\circ\text{Cd}^{-1} \text{ grano}^{-1}) = \frac{TCP_{PC} (\text{mg pl}^{-1} \text{ } ^\circ\text{Cd}^{-1})}{\text{NGP} (\text{granos pl}^{-1})} \quad (2.2)$$

El crecimiento por planta durante el período de llenado efectivo (CP_{PLLE}) se calculó como la biomasa producida entre R_2 y R_6 (Ec. 2.3).

$$CP_{PLLE} (\text{g pl}^{-1}) = \text{biomasa en } R_6 (\text{g pl}^{-1}) - \text{biomasa estimada en } R_2 (\text{g pl}^{-1}) \quad (2.3)$$

El crecimiento por planta por grano durante el período de llenado efectivo ($CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$) se calculó como el cociente entre el CP_{PLLE} y el NGP (Ec. 2.4).

$$CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1} (\text{mg grano}^{-1}) = \frac{CP_{PLLE} (\text{mg pl}^{-1})}{\text{NGP} (\text{granos pl}^{-1})} \quad (2.4)$$

2.2.4. Análisis estadístico

Mediante un modelo lineal mixto se evaluaron los efectos fijos de los factores GG, N, Exp. y sus interacciones usando el paquete *nlme* (versión 3.1-131) en R 3.4.1 (R Core Development Team, 2017):

$$Y_{ijklm} = \mu + \alpha_i + \beta_j(\alpha_i) + \gamma_k + \alpha_i\gamma_k + \rho_{ijk} + \delta_l + \alpha_i\delta_l + \gamma_k\delta_l + \alpha_i\gamma_k\delta_l + \tau_m(\delta_l) + \varepsilon_{ijklm}$$

donde Y_{ijklm} es el valor del atributo correspondiente al i -ésimo Exp. ($i = 4$), j -ésimo bloque ($j = 3$), k -ésimo nivel de N ($k = 2$), l -ésimo GG ($l = 2$), y m -ésimo genotipo ($m = 18$ en Exps. 1 y 2, $m = 36$ en Exps. 3 y 4); μ la media general; α_i el efecto del Exp.; $\beta_j(\alpha_i)$ el efecto del bloque anidado en el Exp.; γ_k el efecto de la condición de N; $\alpha_i\gamma_k$ es la interacción entre el Exp. y la condición de N; ρ_{ijk} el error de la parcela principal; δ_l el efecto del GG; $\alpha_i\delta_l$ es la interacción entre el Exp. y el GG; $\gamma_k\delta_l$ es la interacción entre la condición de N y el GG; $\alpha_i\gamma_k\delta_l$ es la interacción entre el Exp., condición de N y GG; $\tau_m(\delta_l)$ es el efecto del genotipo anidado dentro del GG, y ε_{ijklm} es el error aleatorio. Los factores α_i , γ_k y δ_l son de efectos fijos, mientras que el resto de los factores son aleatorios. Los componentes de la varianza se estimaron usando el procedimiento de máxima verosimilitud restringida (REML) implementado en *nlme*. El modelo más simple, considerando varianzas homogéneas para todos los factores principales y sus interacciones, se comparó con modelos que consideran varianzas heterogéneas con el fin de seleccionar el más adecuado y parsimonioso. La elección del modelo se basó en el criterio de bondad de ajuste del Akaike (AIC), en el cual mejor modelo es aquel que

tiene el menor valor de AIC (Akaike, 1974). El supuesto de distribución normal de los residuales se cumplió para todos los atributos excepto para la TCP_{PC} grano⁻¹, la cual se transformó a \log_2 para el análisis. Para los tratamientos con efectos significativos, se calculó la diferencia mínima significativa entre medias mediante el test LSD al 5%. El grado de asociación entre los distintos caracteres ecofisiológicos evaluados se determinó mediante el coeficiente de correlación de *Pearson* (r) de cada combinación GG \times N, usando el paquete *qgraph* (versión 1.4.4) en R 3.4.1 (R Core Development Team, 2017).

2.3. Resultados

2.3.1. Condiciones meteorológicas y disponibilidad de nitrógeno en el suelo

El contenido de N inorgánico a la siembra varió entre experimentos (Cuadro 2.2). Los niveles de nitratos a la siembra fueron similares en los Exps. 1 y 4 (ca. 50 kg N ha⁻¹), menores en el Exp. 2 (23 kg N ha⁻¹), y mucho más altos en el Exp. 3 (121 kg N ha⁻¹). Las condiciones climáticas también variaron entre estaciones de crecimiento (Cuadro 2.2). En general, la radiación incidente promedio de todo el ciclo fue similar en los Exps. 1 y 2, aunque en el Exp. 2 fue levemente superior. Por su parte, los Exps. 3 y 4 expresaron una caída del 21 y 12% en relación al máximo registrado en el Exp. 2, respectivamente. Estas caídas se acentuaron durante el período crítico en el Exp. 4 (-22%) y durante el llenado efectivo en el Exp. 3 (-30%). Asimismo, el Exp. 3 sufrió la mayor disminución en los niveles de radiación solar entre ambas fases reproductivas (-35%). Por el contrario, el Exp. 2 tuvo la menor diferencia entre ambas fases (-8%), y fue seguido por el Exp. 4 (-6%) y Exp. 1 (-17%).

Respecto de las temperaturas, las diferencias entre experimentos fueron menores tanto en las medias diarias (sólo 5% entre el más cálido Exp. 3 y el más fresco Exp. 2) como en las máximas medias (9% entre los Exps. 1 y 4). Sin embargo, algunos valores merecen particular atención: (i) el período crítico más fresco de los Exps. 2 y 4 respecto del promedio de todos los experimentos, tanto en la temperatura media diaria (-8 y -10%, respectivamente) como en la máxima media (-10 y -16%, respectivamente); (ii) el llenado efectivo más fresco del Exp. 3 (-8 y 15% en la temperatura media y máxima, respectivamente); y (iii) las altas temperaturas registradas en el Exp. 1 (temperaturas máximas $\geq 30^\circ\text{C}$ durante todo el ciclo y en particular en las fases evaluadas).

Cuadro 2.2. Valores del análisis de suelo a la siembra del estrato superior (0,4 m) del perfil, y datos climáticos promedio del período entre emergencia y madurez fisiológica (E-MF), período crítico para la fijación de granos (PC), y período de llenado efectivo (PLLE). Los datos corresponden a experimentos desarrollados durante el 2002-03 (Exp. 1), 2003-04 (Exp. 2), 2013-14 (Exp. 3), y 2014-15 (Exp. 4). El valor más alto de cada variable está en **negrita**.

Contenido en el Suelo		Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4
NO ₃ -N (kg N ha ⁻¹)	0-40 cm	55	23	121	48
Materia Orgánica (g 100 g ⁻¹)	0-40 cm	2,2	2,3	2,3	2,0
N total (g 100 g ⁻¹)	0-40 cm	0,108	0,118	0,117	0,105
Datos Climáticos					
Temperatura Media (°C)	E-MF	22,2	20,8	22,3	21,1
	PC	24,1	22,2	23,8	21,8
	PLLE	22,0	21,6	21,0	21,1
Temperatura Máxima Media (°C)	E-MF	30,4	28,2	28,7	27,5
	PC	32,7	29,3	30,7	27,5
	PLLE	29,9	28,8	25,5	27,3
Radiación Solar Incidente Media (MJ m ⁻²)	E-MF	23,1	24,0	18,9	21,1
	PC	24,7	26,0	25,6	22,5
	PLLE	20,4	24,0	16,8	21,1

2.3.2. Crecimiento de la planta, relación fuente-destino y componentes del rendimiento

A partir del análisis del modelo mixto se detectó un claro ($P < 0,001$) efecto del experimento (E) para todos los atributos evaluados, el cual puede atribuirse en gran parte a las diferencias entre experimentos en las condiciones climáticas exploradas y en el contenido de N inicial del suelo (Cuadro 2.2). Asimismo, los efectos del N y GG fueron significativos ($P < 0,001$) para la mayoría de los atributos, excepto para la relación fuente-destino del período crítico (i.e. TCP_{PC} grano⁻¹). A pesar de la significancia de los efectos principales E, N y GG, los mismos expresaron interacciones E×N, E×GG, N×GG, y/o E×N×GG significativas ($P < 0,05$; Cuadro 2.3).

Cuadro 2.3. Mitad superior: valores medios \pm error estándar de los factores de efectos fijos experimento (E), nitrógeno (N) y grupo genotípico (GG). Mitad inferior: análisis de varianza. Los datos corresponden a experimentos desarrollados durante el 2002-03 (Exp. 1), 2003-04 (Exp. 2), 2013-14 (Exp. 3), y 2014-15 (Exp. 4).

Fuente de variación		gl ^a	TCP _{PC} (mg pl ⁻¹ °Cd ⁻¹)	CP _{PLLE} (g pl ⁻¹)	TCP _{PC} grano ⁻¹ (mg °Cd ⁻¹ grano ⁻¹)	CP _{PLLE} grano ⁻¹ (mg grano ⁻¹)	NGP (pl ⁻¹)	PG (mg grano ⁻¹)	RGP (g pl ⁻¹)
E	Exp. 1		165 \pm 5,5	66 \pm 3,1	0,61 \pm 0,013	213 \pm 6,8	297 \pm 9,6	223 \pm 2,5	69 \pm 2,3
	Exp. 2		236 \pm 6,1	66 \pm 3,1	0,67 \pm 0,014	173 \pm 6,8	361 \pm 9,6	223 \pm 2,5	83 \pm 2,2
	Exp. 3		179 \pm 5,8	71 \pm 2,9	0,48 \pm 0,013	187 \pm 6,5	390 \pm 9,3	221 \pm 2,3	84 \pm 2,2
	Exp. 4		203 \pm 5,9	81 \pm 3,0	0,61 \pm 0,013	232 \pm 6,6	343 \pm 9,4	232 \pm 2,4	82 \pm 2,5
N	N0		162 \pm 3,8	51 \pm 1,7	0,59 \pm 0,010	179 \pm 4,9	294 \pm 7,6	212 \pm 1,7	62 \pm 1,7
	N1		229 \pm 4,0	91 \pm 2,0	0,59 \pm 0,010	224 \pm 4,9	402 \pm 7,5	238 \pm 1,7	97 \pm 1,7
GG	H		231 \pm 3,2	93 \pm 1,6	0,59 \pm 0,008	225 \pm 3,5	405 \pm 5,1	252 \pm 1,0	103 \pm 1,2
	L		160 \pm 5,5	49 \pm 2,4	0,60 \pm 0,012	178 \pm 7,3	291 \pm 12	198 \pm 2,2	56 \pm 2,0
E		3	*** ^b	***	*** ^d	***	***	***	***
N		1	**	**	ns	**	**	**	***
GG		1	***	***	ns	***	***	***	***
E \times N		3	***	***	ns	***(23)	***(33)	***(10)	***
E \times GG		3	***	***	*	***(22)	Ns	***(10)	ns
N \times GG		1	***	***	ns	***(19)	***(28)	***(8)	***
E \times N \times GG		3	***(22) ^c	** (12)	*(0,16)	ns	Ns	ns	***(9)

^aCP_{PLLE}: crecimiento por planta durante el período de llenado efectivo; gl: grados de libertad; H: híbridos; L: líneas; N0: control, sin agregado de N; N1: fertilizado con 400 (Exps. 1 y 2) y 200 kg N ha⁻¹ (Exps. 3 y 4); NGP: número de granos por planta; PG: peso de grano; RGP: rendimiento en grano por planta; TCP_{PC}: tasa de crecimiento por planta durante el período crítico.

^b*, **, *** representa valores *P* significativos al 0,05; 0,01; y 0,001, respectivamente. ns: no significativo.

^cNúmeros en parentésis representan la diferencia mínima significativa (DMS) del test LSD de Fisher para las medias con $P \leq 0,05$.

^dAnálisis de la varianza basado en los datos transformados a log₂ de la TCP_{PC} grano⁻¹.

En casi todos los atributos, los valores promedio fueron mayores en N1 que en N0 ($P < 0,001$), excepto en la $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$ (Cuadro 2.3). Cuando se compararon ambos grupos de genotipos, los híbridos superaron a las líneas no sólo en sus valores promedio para los distintos atributos, sino también en la magnitud de la respuesta al aumento en la oferta de N (% Cambio en Cuadro 2.4). Este patrón de respuesta se sostuvo a lo largo de todos los experimentos, y la única excepción fue la $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$, para la cual no se detectó una tendencia clara. Para el promedio de todos los atributos, los Exps. 1 y 3 tuvieron el mayor (65% para híbridos y 34% para líneas) y el menor (14% para híbridos y 2% para líneas) grado de respuesta a la disponibilidad de N, respectivamente (Cuadro 2.4).

Cuadro 2.4. Valores medios de los atributos evaluados en híbridos (H) y líneas endocriadas (L) creciendo bajo dos condiciones de nitrógeno (N0 y N1). Porcentaje de cambio (% Cambio) expresado como relativo a N0. Los datos corresponden a experimentos llevados a cabo durante el 2002-03 (Exp. 1), 2003-04 (Exp. 2), 2013-14 (Exp. 3) y 2014-15 (Exp. 4). Para cada atributo, el valor más alto de % Cambio de cada combinación Experimento × Grupo Genotípico está en **negrita**.

Atributo	Grupo Genotípico	Exp. 1			Exp. 2			Exp. 3			Exp. 4		
		N0	N1	% Cambio	N0	N1	% Cambio	N0	N1	% Cambio	N0	N1	% Cambio
TCP _{PC} ^a (mg pl ⁻¹ °Cd ⁻¹)	H	152	261	72 *** ^b	217	333	53 ***	198	215	9 **	180	315	75 ***
	L	112	145	29 ***	185	217	17 **	138	165	20 *	126	191	52 ***
CP _{PLLE} (g pl ⁻¹)	H	53	127	140 ***	52	133	156 ***	77	104	35 ***	64	133	108 ***
	L	30	55	83 ***	30	48	60 ***	54	48	-11 ns	49	78	59 ***
TCP _{PC} grano ⁻¹ (mg °Cd ⁻¹ grano ⁻¹)	H	0,58	0,58	0Ns	0,67	0,69	3 ns	0,48	0,46	-4 ns	0,6	0,64	7 ***
	L	0,69	0,58	-16Ns	0,67	0,66	-1 ns	0,47	0,52	11 ns	0,57	0,61	7 ns
CP _{PLLE} grano ⁻¹ (mg grano ⁻¹)	H	192	280	46 ***	157	278	77 ***	185	223	21 ***	205	264	29 ***
	L	164	207	26 Ns	110	138	25 *	186	155	-17 ns	217	237	9 ns
NGP (pl ⁻¹)	H	276	457	66 ***	335	484	44 ***	420	471	12 ***	310	504	63 ***
	L	186	278	49 ***	288	347	20 **	316	353	12 ns	232	332	43 *
PG (mg grano ⁻¹)	H	224	279	25 ***	225	286	27 ***	234	250	7 ***	236	281	19 ***
	L	186	202	9 Ns	184	199	8 *	204	194	-5 ns	200	211	6 ns
RGP (g pl ⁻¹)	H	62	127	105 ***	75	138	84 ***	97	116	20 ***	73	141	94 ***
	L	35	56	60 ***	52	69	33 ***	61	63	3 ns	45	69	52 **

^aCP_{PLLE}: crecimiento por planta durante el período de llenado efectivo; N0: control, sin agregado de N; N1: fertilizado con 400 (Exps. 1 y 2) y 200 kg N ha⁻¹ (Exps. 3 y 4); NGP: número de granos por planta; PG: peso de grano; RGP: rendimiento en grano por planta; TCP_{PC}: tasa de crecimiento por planta durante el período crítico.

^b*, **, *** representa valores *P* significativos al 0,05; 0,01; y 0,001, respectivamente. ns: no significativo.

En función de la respuesta a la condición de N a lo largo de los grupos genotípicos y experimentos, los atributos se agruparon en (i) aquellos relacionados con la producción de biomasa (TCP_{PC} y CP_{PLLE}) y rendimiento en grano (NGP, RGP), los cuales aumentaron en N1 ($P < 0,01$, Cuadro 2.4) en ambos grupos genotípicos; (ii) aquellos asociados con la relación fuente-destino del llenado efectivo ($CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$) y el PG, los cuales aumentaron en N1 sólo en los híbridos (excepto por un modesto aumento en las líneas en el Exp. 2, Cuadro 2.4); y (iii) aquel relacionado con la relación fuente-destino en floración ($TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$), el cual casi no varió con el nivel de N (sólo en los híbridos en el Exp. 4, Cuadro 2.4). Para el primer grupo de caracteres, el CP_{PLLE} tuvo, en promedio, la mayor respuesta al aumento en el nivel de N (110% para híbridos y 48% para líneas), y fue seguido por el RGP (76% para híbridos y 37% para líneas). Fue notable la respuesta de similar magnitud para la TCP_{PC} y el NGP tanto en híbridos (52 y 46%, respectivamente) como en líneas (30 y 31%, respectivamente). Esto respalda la ausencia de variación entre niveles de N detectada para la $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$. A su vez, resulta destacable que el efecto del nivel de N ($P < 0,001$) para los caracteres del segundo grupo se detectó sólo en los híbridos. Para este grupo, la respuesta promedio al aumento en la disponibilidad de N fue sustancialmente mayor en el $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$ (43%) que en el PG (19%).

2.3.3. Relaciones fuente-destino y determinación del peso de grano en respuesta a la disponibilidad de nitrógeno

Los cambios en el PG estuvieron principalmente asociados a las variaciones en el $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$ en ambos grupos genotípicos (Fig. 2.1). Sin embargo, los modelos bilineales ajustados difirieron ($P < 0,001$) entre híbridos ($r^2 = 0,64$; $P < 0,001$; Fig. 2.1A) y líneas ($r^2 = 0,50$; $P < 0,001$; Fig. 2.1B). El aumento de PG por unidad de incremento en el $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$ (i.e. pendiente de la función de ajuste) fue casi igual ($P > 0,05$) en ambos grupos de genotipos (0,46 – 0,47; Fig. 2.1). Sin embargo, el umbral de $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$ donde se alcanza el máximo PG fue mucho mayor en los híbridos (299 mg grano^{-1} ; Fig. 2.1A) que en las líneas (176 mg grano^{-1} ; Fig. 2.1B). Los híbridos también superaron a las líneas en el máximo PG estimado por el modelo (287 vs. 210 mg). Dicho valor estuvo apenas por debajo (híbridos, Fig. 2.1A) o por encima (líneas, Fig. 2.1B) de la relación 1:1. Asimismo, el efecto de la disponibilidad de N sobre la relación mencionada difirió entre ambos grupos genotípicos. En los híbridos, el aumento en el nivel de N causó (i) un incremento en el $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$, con el consiguiente aumento en el PG (Fig. 2.1A; Cuadro 3), y (ii) una proporción considerable de exceso en la fuente (30% de los puntos por debajo de la relación 1:1) respecto del tratamiento N0 (96% de los puntos por encima de la relación 1:1). En las líneas, si bien la pendiente inicial del modelo no difirió de la de los híbridos, todos los demás parámetros (ordenada, punto de corte y máximo PG) fueron menores que los estimados para los híbridos (Fig. 2.1). Además, no se detectó una tendencia clara (i.e. no existió agrupamiento diferencial de puntos) en la respuesta a la disponibilidad de N para las líneas (Fig. 2.1B; Cuadro 2.4).

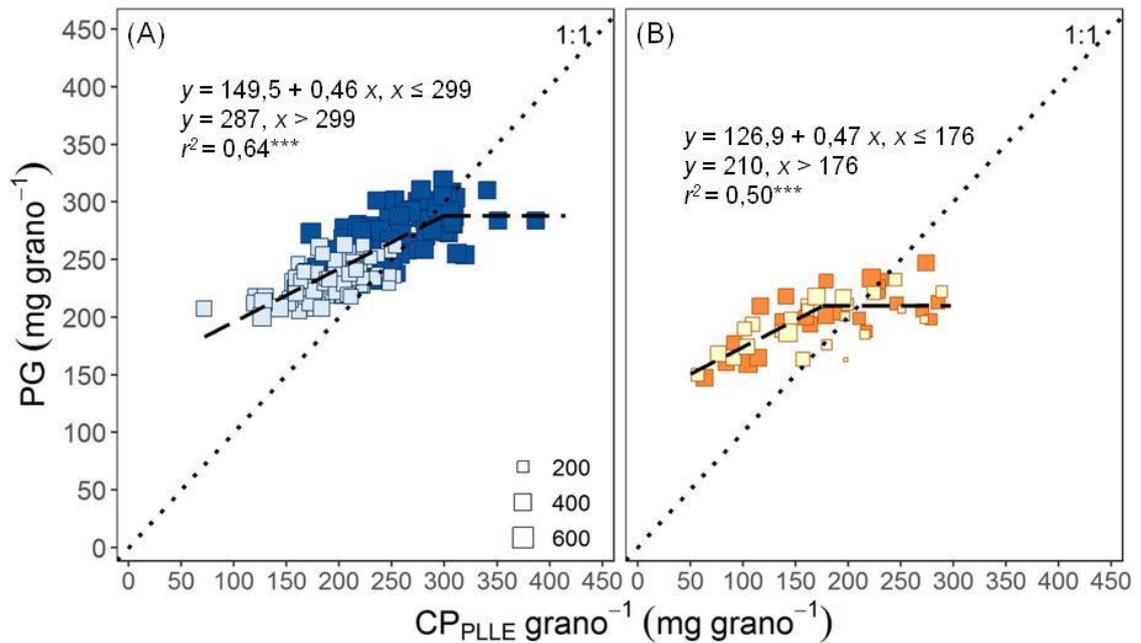


Figura 2.1. Respuesta del peso de grano (PG) al crecimiento por planta por grano durante el período de llenado efectivo ($CP_{PLE} \text{ grano}^{-1}$) en (A) híbridos ($n = 168$), y (B) líneas ($n = 48$). Los genotipos se cultivaron durante cuatro años y bajo dos condiciones de N. Los símbolos representan niveles de N (llenos para N1 y vacíos para N0). Para cada grupo genotípico se ajustó ($P < 0,001$) un modelo bi-lineal con *plateau* (línea entrecortada). Las diferencias en el tamaño de los símbolos corresponden al número de granos por planta (NGP), representado en tres grupos de valores (tamaño de los símbolos). El rango de NGP osciló entre (A) 216 y 621 granos pl^{-1} , y (B) 101 y 480 granos pl^{-1} . La línea punteada representa la relación 1:1.

Como resultado del efecto diferencial del tratamiento de N sobre ambos grupos genotípicos para la asociación entre el PG y el $CP_{PLE} \text{ grano}^{-1}$ (Fig. 2.1), la respuesta del cambio relativo en el PG por unidad de cambio relativo en el $CP_{PLE} \text{ grano}^{-1}$ (Fig. 2.2) fue notablemente ($P < 0,05$) mayor en los híbridos que en las líneas (pendiente de los ajustes: 0,37 vs. 0,22). Adicionalmente, el rango de valores relativos negativos del $CP_{PLE} \text{ grano}^{-1}$ explorado por las líneas (ca. 40%) fue mucho menor que el de los híbridos (ca. 70%) (Fig. 2.2). La disminución relativa promedio de ambos atributos fue ca. tres veces mayor en los híbridos (-24% para $CP_{PLE} \text{ grano}^{-1}$ y -14% para PG) que en las líneas (-8% para $CP_{PLE} \text{ grano}^{-1}$ y -4% para PG).

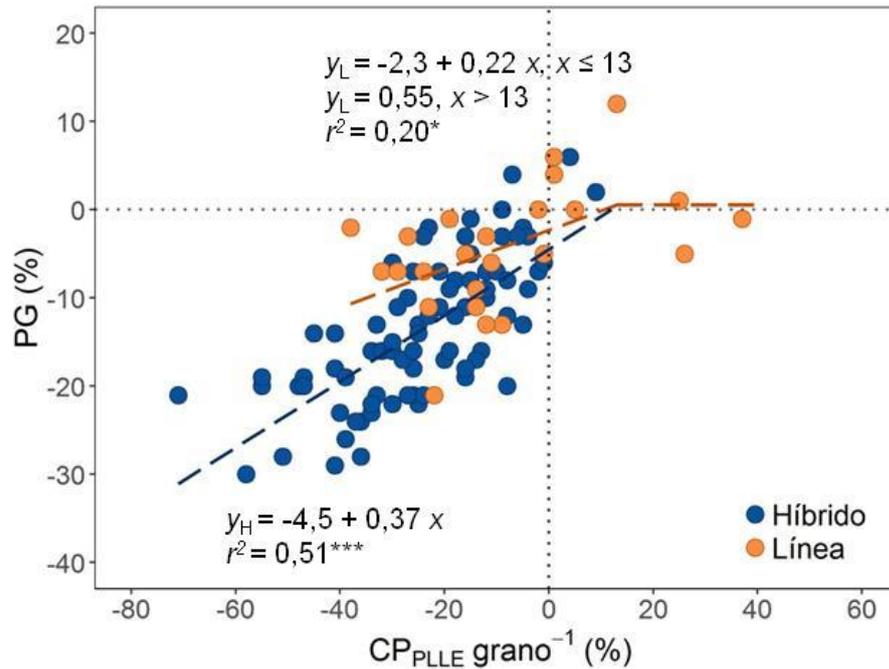


Figura 2.2. Relación entre el cambio relativo del peso de grano (PG) y el cambio relativo del crecimiento por planta por grano durante el período de llenado efectivo ($CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$), ambos calculados como la diferencia relativa entre ambos niveles de nitrógeno, i.e. $(N_0-N_1)/N_1$. Un modelo lineal (línea azul) y uno bi-lineal con *plateau* (línea naranja) ajustó el conjunto de datos de los híbridos ($n = 84$; $P < 0,001$) y de las líneas ($n = 24$; $P < 0,05$), respectivamente.

Cuando se analizó la relación entre el PG y la $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$, para los híbridos se ajustaron dos modelos distintos dependiendo de la condición de N (Fig. 2.3A). Los híbridos exploraron una $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$ similar en ambos niveles de N, pero expresaron un mayor PG en la condición N1. En consecuencia, se ajustaron dos modelos independientes para describir las diferencias entre condiciones de N de manera adecuada, uno bi-lineal con *plateau* para el nivel N1 y uno lineal para el nivel N0 (Fig. 2.3A). Asimismo, el ajuste fue mucho más robusto para el nivel N1 ($r^2 = 0,61$; $P < 0,001$) que para N0 ($r^2 = 0,09$; $P < 0,01$). En el caso de las líneas, la relación entre el PG y la $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$ fue sólo significativa en N1 ($r^2 = 0,34$; $P < 0,01$) y, al igual que en los híbridos, se ajustó un modelo bi-lineal con *plateau* (Fig. 2.3B). Sin embargo, todos los parámetros de dicho modelo difirieron notablemente entre grupos genotípicos. En este sentido, las líneas presentaron con respecto a los híbridos (i) la menor $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$ donde se alcanza el máximo PG (0,51 vs. 0,67 $\text{mg } ^\circ\text{Cd}^{-1} \text{ grano}^{-1}$), (ii) el menor PG máximo estimado por el modelo (208 vs. 290 mg), (iii) la menor ordenada al origen (37 vs. 164 mg), la cual representa el mínimo PG alcanzable, y (iv) la mayor pendiente inicial (335 vs. 189 $^\circ\text{Cd}$).

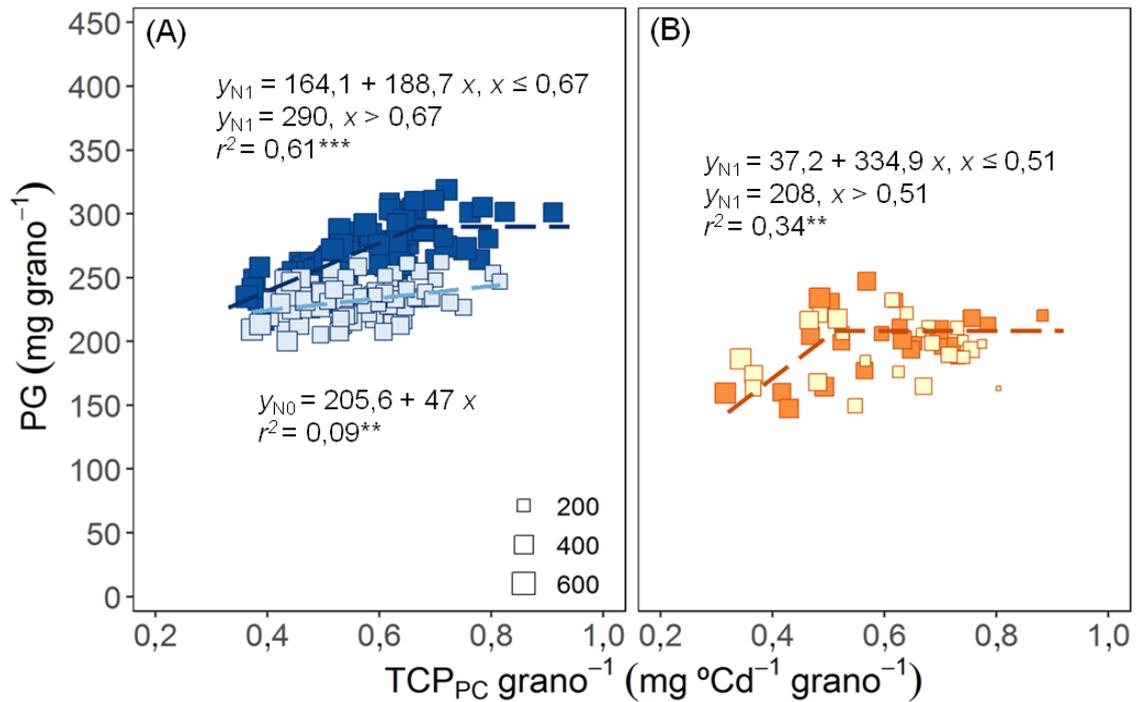


Figura 2.3. Respuesta del peso de grano (PG) a la tasa de crecimiento por planta por grano durante el período crítico (TCP_{PC} grano⁻¹) en (A) híbridos (n = 168), y (B) líneas (n = 48). Los genotipos se cultivaron durante cuatro años y bajo dos condiciones de N. Un modelo bi-lineal con *plateau* ajustó el conjunto de datos en N1 para los híbridos (línea azul entrecortada; $P < 0,001$) y las líneas (línea naranja entrecortada; $P < 0,01$). Un modelo lineal (línea celeste entrecortada) ajustó el conjunto de datos en N0 sólo para los híbridos. Los símbolos tienen la misma descripción que en la Fig. 2.1.

2.3.4. Asociaciones entre atributos bajo distintos niveles de nitrógeno

Las correlaciones entre los caracteres evaluados difirieron sustancialmente dependiendo del grupo genotípico y de la condición de N (Fig. 2.4). Para los híbridos en la condición N1 (Fig. 2.4B), el PG estuvo fuertemente asociado con la TCP_{PC} grano⁻¹ ($r = 0,75$; $P < 0,001$) al igual que con el CP_{PLLE} grano⁻¹, TCP_{PC} y CP_{PLLE} ($r \sim 0,60$; $P < 0,001$); mientras que en N0 (Fig. 2.4A) sólo se asoció fuertemente con el CP_{PLLE} grano⁻¹ ($r = 0,60$; $P < 0,001$). Resulta relevante la correlación robusta entre la TCP_{PC} y TCP_{PC} grano⁻¹ ($r = 0,86$; $P < 0,001$), así como entre el CP_{PLLE} y CP_{PLLE} grano⁻¹ ($r = 0,81$; $P < 0,001$), ambas detectadas en N1 (Fig. 2.4B). Para dicho nivel de N, ambas relaciones fuente-destino (TCP_{PC} grano⁻¹ y CP_{PLLE} grano⁻¹) se asociaron positivamente ($r = 0,36$; $P < 0,001$).

En el caso de las líneas, el PG se relacionó sobre todo ($r \geq 0,6$; $P < 0,001$) con el CP_{PLLE} y el CP_{PLLE} grano⁻¹, más allá del nivel de N explorado (Fig. 2.4C y 2.4D). Asimismo, el PG se asoció levemente con la TCP_{PC} grano⁻¹, pero sólo en N1 (Fig. 2.4D). Al igual que lo observado previamente para los híbridos, ambas relaciones fuente-destino se asociaron positivamente ($r = 0,45$; $P < 0,001$) para las líneas en la condición de alto N.

Las correlaciones negativas detectadas en N0 (Fig. 2.4A y 2.4C) incluyeron los mismos atributos en ambos grupos genotípicos, siendo las observadas entre (i) el NGP y ambas relaciones fuente-destino, (ii) la TCP_{PC} grano⁻¹ y el CP_{PLLE}, y (iii) la TCP_{PC} y el CP_{PLLE} grano⁻¹. Sin embargo, las correlaciones que involucraron a la TCP_{PC} grano⁻¹ fueron más fuertes (entre -0,51 y -0,71) que las que incluyeron el CP_{PLLE} grano⁻¹ (entre -0,39 y -0,5) (Fig. 2.4A y 2.4C). A diferencia de lo observado en N0, todas las

correlaciones negativas entre los atributos desaparecieron en N1 en los híbridos (Fig. 2.4B), mientras que algunas permanecieron en las líneas (Fig. 2.4D), como las observadas entre las relaciones fuente-destino y el NGP.

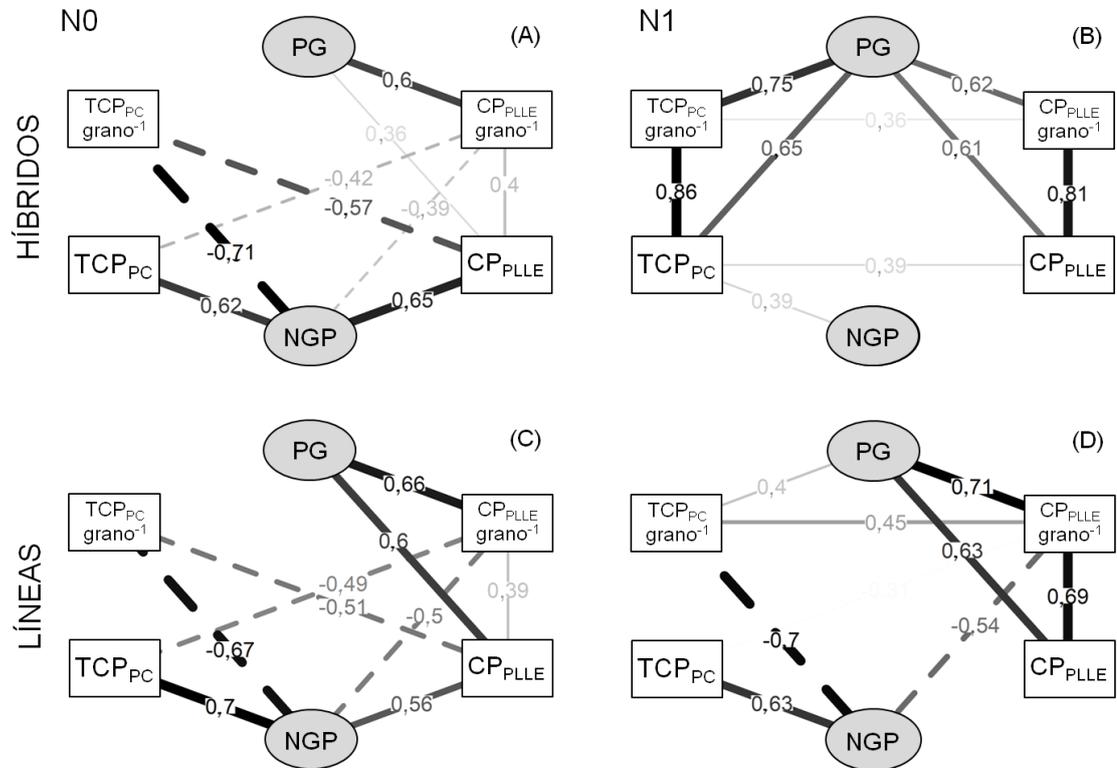


Figura 2.4. Correlación fenotípica (r) entre los atributos fisiológicos evaluados para cada combinación Grupo Genotípico \times Nivel de N. Las líneas sólidas y entrecortadas indican correlaciones positivas y negativas, respectivamente. La tonalidad y el ancho de las líneas corresponden a la escala relativa a la correlación más robusta del gráfico. Correlaciones menores a 0,30 o no significativas ($P > 0,05$) no se muestran. CP_{PLE}: crecimiento por planta durante el período de llenado efectivo; NGP: número de granos por planta; PG: peso de grano; TCP_{PC}: tasa de crecimiento por planta durante el período crítico.

2.4. Discusión

2.4.1. Producción de biomasa, relación fuente-destino y peso de grano en respuesta a la disponibilidad de nitrógeno

El PG en maíz se asoció principalmente con el CP_{PLE} grano⁻¹, y el efecto del nivel de N sobre el PG estuvo mediado por los cambios en dicha relación fuente-destino, con diferencias notorias entre los grupos genotípicos en sus patrones de respuesta (Fig. 2.1). Estos resultados respaldan nuestra hipótesis de trabajo así como los resultados de estudios previos, en los cuales el PG se asoció con la disponibilidad de asimilados por grano durante el período de llenado efectivo (Maddonni et al., 1998; Borrás y Otegui, 2001; D'Andrea et al., 2016). Por el contrario, la TCP_{PC} grano⁻¹ casi no varió con el cambio en la oferta de N.

La ausencia de cambio de la TCP_{PC} grano⁻¹ entre niveles de N fue el resultado de la respuesta similar entre sus componentes (la TCP_{PC} y el NGP) a la disponibilidad de N (Cuadros 2.3 y 2.4). El efecto negativo del déficit de N sobre el crecimiento vegetativo, i.e. menor tamaño del canopeo, y por consiguiente menor producción de biomasa en pre-silking, es ampliamente conocido. El mismo resulta en una disminución de la TCP_{PC}

y, por lo tanto, en una menor fijación de granos, lo que afecta negativamente el NGP (Uhart y Andrade, 1995b; Below et al., 2000; Monneveux et al., 2005; Lemaire et al., 2008). En consecuencia, el rango de TCP_{PC} grano⁻¹ explorado fue similar en ambos niveles de N (Fig. 2.3), lo que sugiere que las variaciones en el PG final en respuesta a la disponibilidad de N no estuvieron asociadas a cambios en el PG potencial, el cual queda definido temprano en el llenado del grano. Sin embargo, trabajos previos indican que (i) las variaciones genotípicas y ambientales en el PG final dependen de la TCP_{PC} grano⁻¹ (Borrás y Wetsgate, 2006; Gambín et al., 2006; 2008; Tamagno et al., 2015); y (ii) el PG potencial aumenta con la mejora en la condición de N, ya que el máximo contenido de agua en el grano (el cual se asocia con el PG potencial; Borrás et al., 2003) fue mayor con alto nivel de N (Melchiori y Caviglia, 2008). Nuestros resultados concuerdan parcialmente con estos estudios, pues la relación entre el PG y la TCP_{PC} grano⁻¹ fue consistente sólo en N1 (Fig. 2.3 y 2.4B). Para dicho nivel de N, el período de llenado efectivo probablemente estuvo sujeto a una condición de saturación/exceso en la oferta de asimilados hacia los granos en crecimiento, lo que pudo haber permitido alcanzar el PG potencial (Borrás et al., 2004) definido previamente. Aun así, el PG y la TCP_{PC} grano⁻¹ también estuvieron relacionados bajo N0, pero débilmente; en cambio, el PG continuó asociado de manera robusta con el CP_{PLLE} grano⁻¹ en esta condición (Figs. 2.4A y 2.4C).

El efecto de la disponibilidad de N sobre la respuesta del PG a las relaciones fuente-destino de la etapa reproductiva permite considerar dos escenarios. El primero se refiere a sistemas de producción con alta oferta de N, donde el PG final está determinado tanto por las condiciones de crecimiento experimentadas durante el período crítico como por aquellas imperantes durante el período de llenado efectivo. El período crítico representa la fase de “generación del potencial”, mientras que el llenado efectivo se refiere a la fase de “realización” de ese potencial. Así, el PG potencial queda definido en la primera fase y no puede ser mejorado durante la fase subsiguiente (Fig. 2.4B). El segundo escenario se aplica a condiciones de baja oferta de N, donde el PG final no refleja el potencial definido tempranamente, el cual se espera sea equivalente al fijado con alto N dada la similar TCP_{PC} grano⁻¹ observada en ambos niveles de N. Como resultado, se espera ocurra un desacople entre ambas relaciones fuente-destino (i.e. la del período crítico y la del llenado efectivo) conforme el déficit de N se intensifica con el progreso en el ciclo del cultivo. En consecuencia, el PG potencial definido durante la fase *lag* no se alcanza a madurez (Borrás et al., 2004).

En condiciones no limitantes, frecuentes en la mayoría de las áreas templadas de producción de maíz, es poco usual que exista una desconexión entre ambas fases del llenado (i.e. fase *lag* y período de llenado efectivo). Así, el PG final refleja el potencial definido en la primera fase. En cambio, el aumento de los efectos negativos del déficit de N durante el llenado activo del grano, a través de la caída en la duración del área foliar (Triboi y Triboi-Blondel, 2002; He et al., 2005), explicaría el desacople entre ambas fases del llenado. Esto resultó evidente en la gran disminución del CP_{PLLE} observado en N0 (Cuadros 2.3 y 2.4). En este contexto, el PG final está menos afectado por la TCP_{PC} grano⁻¹ y más condicionado por las restricciones ambientales experimentadas durante el llenado efectivo, en contraposición con estudios previos en condiciones potenciales (Gambín et al., 2006). Un escenario equivalente al observado en N0 es el que prevalece en los sistemas de bajos insumos basados en agricultura de subsistencia (Bänziger y Lafitte, 1997), al igual que en muchos ambientes tropicales con suelos pobres nutricionalmente (e.g. regosoles del noroeste de Argentina) u oxisoles (e.g. latosoles de la selva tropical en Brazil), en los cuales el N del suelo se lixivia fácilmente durante la estación de lluvias (Melgar et al., 1992). Sin embargo, el

desacople entre ambas fases también puede ocurrir durante siembras tardías en latitudes intermedias (Bonelli et al., 2016), así como en muchos sistemas en altas latitudes (Kiniry y Otegui, 2000), debido al deterioro en los niveles de radiación solar incidente durante la fase de “realización” del PG potencial.

2.4.2. Respuesta de los híbridos y las líneas a la disponibilidad de nitrógeno

La superioridad de los híbridos en comparación con sus líneas parentales se observó en todos los atributos evaluados, no sólo en ambos niveles de N sino también en el grado de respuesta al incremento en la oferta de N (Cuadro 2.4). Como resultado, se detectaron interacciones GG×N y GG×N×E significativas para la mayoría de los atributos, lo que revela el efecto diferencial de las condiciones ambientales, y en particular de la oferta de N, en ambos grupos genotípicos. Estos resultados concuerdan con hallazgos previos en maíz, donde se observan diferencias entre la progenie F₁ y sus líneas parentales en sus respuestas a la disponibilidad de N para rendimiento en grano (Betrán et al., 2003b; Zaidi et al., 2003) y sus determinantes fisiológicos relacionados con el tamaño del canopeo, intercepción de luz y producción de materia seca (D’Andrea et al., 2009; Munaro et al., 2011a).

Respecto de las relaciones fuente-destino, la TCP_{PC} grano⁻¹ de ambos grupos genotípicos fue similar, pero el CP_{PLLE} grano⁻¹ de los híbridos fue mucho mayor (Cuadros 2.3 y 2.4). La constancia en la TCP_{PC} grano⁻¹ bajo distintos niveles de N fue el resultado del mismo grado de variación en los rasgos que la determinan (i.e. de la TCP_{PC} y del NGP) en respuesta a la disponibilidad de N más allá del genotipo (Andrade et al., 2002; D’Andrea et al., 2009), dando lugar a la relativa estabilidad del cociente TCP_{PC}-NGP (Sadras, 2007). Por el contrario, las variaciones en el CP_{PLLE} grano⁻¹ estuvieron asociadas sobre todo con su respuesta a la disponibilidad de N, la cual fue alta en los híbridos pero no en las líneas. Esto se condice con el mayor incremento del CP_{PLLE} de los híbridos respecto a sus líneas parentales en N1 (Cuadro 2.4). Este patrón coincide con hallazgos previos, en donde se observan diferencias notorias en el comportamiento de híbridos y líneas para producción de materia seca bajo disponibilidad de N contrastante, sobre todo durante el período post-floración (D’Andrea et al., 2009; Munaro et al., 2011a).

A diferencia de lo encontrado en los híbridos, no existiría una relación causa-efecto entre el CP_{PLLE} grano⁻¹ y el PG en las líneas. El patrón de respuesta observado entre ambos atributos respaldaría esta presunción. Así, los menores CP_{PLLE} grano⁻¹ y PG de las líneas en relación a los híbridos indicarían que la menor disponibilidad de asimilados por grano estaría limitando el PG final de las líneas. Si así fuese, la relación entre el PG y el CP_{PLLE} grano⁻¹ tendería a ser lineal, ya que los valores de fuente por grano serían menores que los necesarios para maximizar el PG. Sin embargo, la relación obtenida fue de tipo bi-lineal con *plateau* (Fig. 2.1B). Además, el valor umbral de CP_{PLLE} grano⁻¹ por encima del cual el PG no siguió aumentando fue mucho más bajo en las líneas que en los híbridos (176 vs. 299 mg grano⁻¹). En consecuencia, el rango de respuesta del PG al cambio en el CP_{PLLE} grano⁻¹ fue mucho más acotado en ellas y sin una clara tendencia en la respuesta de ambos atributos a la disponibilidad de N. Asimismo, el grado de disminución del CP_{PLLE} grano⁻¹ relativo y la consecuente respuesta del PG relativo fueron considerablemente menores en las líneas que en los híbridos (Fig. 2.2) y aún más bajas que las referidas en la literatura, tanto en híbridos (Borrás et al., 2004) como en líneas de distinto tipo de grano (Severini et al., 2011). Las diferencias en relación a estos trabajos pueden atribuirse a la naturaleza del estrés aplicado (i.e. tiempo, duración e intensidad), la cual es muy distinta entre una restricción progresiva como la producida

por el déficit de N y un estrés impuesto de manera drástica como un sombreado o defoliación.

La respuesta del PG de las líneas al $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$ resultó llamativa en dos aspectos adicionales. En primer lugar, a pesar de la misma pendiente de la función bi-lineal ajustada para ambos grupos genotípicos, el PG de las líneas fue siempre menor que el de los híbridos en cualquier valor de $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1} <$ al punto de corte que marca el inicio del *plateau*, correspondiente al PG máximo (Fig. 2.1). Dicha respuesta indica una mayor capacidad de los híbridos en el uso de las reservas destinadas a los granos, y/o una capacidad reducida de almacenamiento de las reservas en las líneas. Esto último se debería al reducido tamaño de planta de las líneas (D'Andrea et al., 2009; Munaro et al., 2011a), como resultado del efecto de la depresión por endogamia sobre el crecimiento (Duvick, 2005). En segundo lugar, el bajo valor de relación-fuente destino al cual las líneas alcanzan el máximo PG sugiere que el $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$ no estaría limitando el PG (como fue comentado en el párrafo anterior), y/o que existe una restricción intrínseca asociada a la fase de definición del PG potencial. De nuevo, el efecto negativo de la depresión por endocria parece ser el responsable de la respuesta observada en las líneas. Un fenómeno que limita el crecimiento vegetativo podría estar afectando el tamaño de la semilla en forma directa, restringiendo la expansión de la semilla. Si esta suposición resultara correcta, una característica intrínseca de las líneas como es la depresión por endogamia podría tener fuertes implicancias en el entendimiento de las diferencias entre genotipos en la determinación del PG. Por lo tanto, a pesar de que la $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$ fue similar en ambos grupos, la reducida capacidad de expansión de los tejidos en las líneas pudo haber resultado en un bajo PG potencial. Dicha condición intrínseca reduciría el impacto de la $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$ sobre la determinación del PG potencial, más allá de la condición de N explorada. No obstante, el PG final de las líneas estuvo fuertemente relacionado con el $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$ (Figs. 2.4C y 2.4D), a pesar las probables restricciones *per se* para el incremento en el PG potencial.

Es importante remarcar que ambas suposiciones hechas previamente deben tomarse con recaudo, las cuales indican (i) la ausencia de efecto del nivel de N sobre el PG potencial, y (ii) el efecto de la depresión por endogamia sobre la expansión de la semilla. La primera suposición se basa en los valores de $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$, los cuales fueron similares en ambas condiciones de N. Sin embargo, no se estimaron directamente atributos de la semilla como la tasa de crecimiento del grano o el máximo contenido de agua, los cuales están fuertemente relacionados con su tamaño potencial (Borrás et al., 2003; Borrás y Westgate, 2006; Borrás y Gambín, 2010). Así, Melchiori y Caviglia (2008) detectaron efectos del N sobre el PG potencial a través de cambios en dichos atributos (i.e. la tasa de crecimiento del grano y su máximo contenido de agua). La segunda presunción se basó en la débil asociación $PG - TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$ observada para las líneas, incluso en la condición de alto N. En este caso, no se hicieron mediciones directas en los granos a nivel de célula o tejido (e.g. recuento de células endospermáticas, desarrollo del pericaripio), las cuales podrían haber contribuido a explicar de manera más robusta los efectos de la depresión por endogamia sobre la expansión de la semilla. En este sentido, nuevos trabajos serán necesarios para evaluar este marco conceptual con mayor nivel de precisión, haciendo foco sobre mediciones más detalladas, como las mencionadas previamente.

2.5. Conclusiones

Los resultados obtenidos respaldaron nuestra hipótesis de trabajo, ya que en condiciones contrastantes de disponibilidad de N, las diferencias en el PG estuvieron asociadas a cambios en el $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$ pero no a cambios en la $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$. El

crecimiento en post-floración fue el principal responsable de la respuesta del CP_{PLLE} grano^{-1} al nivel de N. Por el contrario, el efecto de la TCP_{PC} grano^{-1} sobre el PG fue evidente sólo con alta disponibilidad de N. El desacople entre ambas relaciones fuente-destino bajo déficit de N, como resultado de la caída del crecimiento en post-floración, sería el responsable de la falta de respuesta del PG a la TCP_{PC} grano^{-1} . No obstante, dichas respuestas fueron evidentes sólo en los híbridos. En las líneas, no se detectó un efecto claro de la condición de N sobre el PG y el CP_{PLLE} grano^{-1} (a pesar de la asociación robusta entre ambos), y la relación entre el PG y la TCP_{PC} grano^{-1} resultó débil, aún con nivel de N alto. Estos resultados contribuyen a comprender las diferencias genotípicas en la respuesta del PG a los cambios en la oferta de N, y deben ser considerados a los fines del mejoramiento sobre el aumento del PG, ya que los atributos fisiológicos responsables de un PG superior en los híbridos (en particular con alta provisión de N) no son los mismos que en las líneas.

**“Efectos génicos del peso de grano y relaciones fuente-destino
en maíz en ambientes contrastantes en nitrógeno”**

3.1. Introducción

La existencia de variabilidad genética es uno de los aspectos más importantes para considerar la inclusión de un rasgo en el proceso de mejora (Austin, 1993). Dicha variabilidad está compuesta por efectos génicos de naturaleza aditiva y no aditiva, por lo que también resulta importante la preponderancia relativa de cada uno de ellos. Los efectos aditivos constituyen la porción predecible de los efectos genéticos y, por lo tanto, son los más usados en el proceso de selección (Cooper et al., 2009). El análisis dialélico permite cuantificar la magnitud de los efectos génicos, particionando el valor del híbrido en términos de aptitud combinatoria general (ACG) y específica (ACE) (Sprague y Tatum, 1942) según los efectos sean de tipo aditivo o no aditivo (i.e. dominancia), respectivamente. Tanto la magnitud como la naturaleza de los efectos génicos, estimados a partir de datos fenotípicos, no son constantes a través de ambientes, por lo que resulta conveniente que el análisis dialélico sea llevado a cabo en más de una condición ambiental, con el fin de obtener estimaciones confiables de dichos efectos. En este sentido, son inexistentes los estudios basados en diseños dialélicos bajo condiciones contrastantes de disponibilidad de N que evalúen tanto a los determinantes fisiológicos del PG como a los atributos de crecimiento de la planta y relación fuente-destino durante del período reproductivo.

El PG, al igual que sus dos determinantes principales (i.e. TCG y DLLG), presentan valores medios a altos de heredabilidad, destacándose la heredabilidad para MCAG, PG y TCG (Sadras, 2007; Alvarez Prado et al., 2013a, b). Para dichos atributos se ha observado un predominio de efectos génicos aditivos, tanto en materiales templados (Cross, 1975; Katsantonis et al., 1986; Wang et al., 1999) como tropicales (Josue y Brewbaker, 2018), evidente en la superioridad del componente de ACG sobre el de ACE. Las estimaciones de heredabilidad para el PG son altas en comparación con las estimaciones efectuadas para el NG y rasgos relacionados con el crecimiento de la planta (Sadras y Slafer, 2012). No obstante, no existen prácticamente estudios que evalúen los componentes de aptitud combinatoria para el resto de los atributos fisiológicos del PG, sobre todo aquellos relacionados con las dinámicas de contenido hídrico y concentración de humedad del grano (i.e. MVG, MCAG, TDG, CHMF).

Los niveles de heterosis, los cuales se asocian principalmente a la acción de genes no aditivos, son significativos para el PG y sus rasgos asociados (Poneleit y Egli, 1979; 1983; Munaro et al., 2011a; Alvarez Prado et al., 2013a; Josue y Brewbaker, 2018). Dichos niveles dependen en gran parte del grado de diversidad genética de los parentales involucrados en los cruzamientos (Smith et al., 1991; Falconer y Mackay, 1996; Melchinger, 1999; Larièpe et al., 2017). No obstante, así como los componentes de ACG y ACE interactúan con el ambiente (Rojas y Sprague, 1952; Matzinger et al., 1959), la expresión de los niveles heterosis también varía con el ambiente explorado (Munaro et al., 2011b). Betrán et al. (2003b) reportaron, para rendimiento en grano, un aumento de los efectos génicos aditivos en ambientes restrictivos en oferta hídrica respecto de aquellos con buena provisión de agua. Por su parte, Munaro et al. (2011a, b) detectaron un incremento en los niveles de heterosis porcentual y absoluta tanto para rendimiento como para sus determinantes fisiológicos, en respuesta a la mejora en la calidad del ambiente (i.e. índice ambiental). En este sentido resultaría esperable observar que, en ambientes potenciales, dados en nuestro caso por la condición de alto N, se maximice la expresión de los efectos génicos no aditivos. Esto se traduciría en incrementos en la magnitud del componente de ACE, así como en los niveles de heterosis, reduciéndose la proporción de los efectos aditivos (componente de ACG). En el presente capítulo se evaluará, para los atributos fisiológicos del peso de grano, relación fuente-destino y componentes del rendimiento: (i) el nivel de variabilidad

explorado por las líneas parentales y su progenie híbrida; (ii) la magnitud de los componentes genético (G), ambiental (A), interacción G×A, y de los componentes de aptitud combinatoria (ACG, ACE); y (iii) las variaciones en los componentes de ACG, ACE, y en los niveles de heterosis en respuesta al cambio en la disponibilidad de N.

3.2. Materiales y métodos

3.2.1. Material genético

Se usaron seis líneas endocriadas y sus 30 híbridos simples, derivados del cruzamiento entre las líneas tanto de manera directa como recíproca, a partir de un diseño dialélico completo. Para una descripción detallada de las seis líneas usadas referirse al Capítulo 2.

3.2.2. Manejo del cultivo y diseño experimental

Los experimentos usados en el presente capítulo corresponden a los Exps. 3 (2013-14) y 4 (2014-15) descritos en el Capítulo 2. El detalle del diseño experimental empleado y el manejo general de los experimentos se encuentra en dicho capítulo.

3.2.3. Mediciones

La duración de cada fase evaluada se computó en unidades de tiempo térmico acumulado (TT, en °Cd), con una temperatura base de 0°C (Muchow, 1990). En cada experimento, se marcaron al azar 15 plantas por parcela alrededor de 15 días previo a anthesis. De cada una de esas plantas se registró la fecha de *silking* (i.e. primer estigma visible) de la espiga apical. Desde 10 días post-*silking* hasta madurez a cosecha (15% humedad del grano) (Borrás et al., 2003), se muestreó la espiga apical de las plantas marcadas en intervalos de 4-6 días. De cada espiga muestreada se extrajeron 10-15 granos entre las espiguillas 8-15 (i.e. el tercio medio). El procedimiento se realizó dentro de una caja húmeda. El peso fresco de los granos se computó inmediatamente, y el peso seco se obtuvo luego de secar los granos muestreados a 70°C por al menos 96 hs. Con los valores de peso fresco y seco se calculó el contenido de agua (mg grano⁻¹) y la concentración de humedad (CH, en %) del grano durante todo el llenado. Adicionalmente, a partir de los 20 días post-*silking*, se extrajeron 10 granos extra de cada espiga muestreada para la determinación del volumen de grano mediante desplazamiento volumétrico de agua.

El peso de grano estimado, la tasa de crecimiento del grano (TCG) y duración del llenado del grano (DLLG) de cada combinación Genotipo × N × Repetición × Año se estimó por medio de un modelo bi-lineal (Borrás y Otegui, 2001) (Ecs. 3.1 y 3.2):

$$PG_E = a + b TT \quad \text{para } TT \leq c \quad (3.1)$$

$$PG_E = a + bc \quad \text{para } TT > c \quad (3.2)$$

donde PG_E es el peso de grano estimado por el modelo (mg grano⁻¹), TT el tiempo térmico post-*silking* (°Cd), a es la intercepción sobre el eje Y (mg grano⁻¹), b es la TCG durante el período de llenado efectivo del grano (mg grano⁻¹ °Cd⁻¹), y c es la DLLG (°Cd). La duración de la fase *lag* (DFL) se estimó como el TT donde la función intercepta al eje x (i.e. $PG_E = 0$). La duración del llenado efectivo del grano (DLLE) se calculó como la diferencia entre la DLLG y DFL.

El máximo volumen de grano (MVG) se estimó mediante un modelo bi-lineal (Ecs. 3.3 y 3.4):

$$VG = d + e TT \quad \text{para } TT \leq f \quad (3.3)$$

$$VG = d + ef \quad \text{para } TT > f \quad (3.4)$$

donde VG es el volumen del grano ($\mu\text{l grano}^{-1}$), TT es el tiempo térmico después de *silking* ($^{\circ}\text{Cd}$), d es la intercepción sobre el eje Y ($\mu\text{l grano}^{-1}$), e es la tasa de aumento del volumen ($\mu\text{l grano}^{-1} \text{ } ^{\circ}\text{Cd}^{-1}$), y f es el período en el cual aumenta el volumen del grano ($^{\circ}\text{Cd}$).

El máximo contenido de agua en el grano (MCAG) se estimó mediante un modelo tri-lineal (Gambín et al., 2007) (Ecs. 3.5, 3.6 y 3.7):

$$CA = g + h TT \quad \text{para } TT \leq i \quad (3.5)$$

$$CA = g + hi + j(TT - i) \quad \text{para } TT > i \text{ y } TT < k \quad (3.6)$$

$$CA = g + hi + j(k - i) - l(TT - k) \quad \text{para } TT \geq k \quad (3.7)$$

donde CA es el contenido de agua (mg grano^{-1}), TT es el tiempo térmico después de *silking*, g es la intercepción sobre el eje Y (mg grano^{-1}), h es la tasa inicial de acumulación de agua ($\text{mg grano}^{-1} \text{ } ^{\circ}\text{Cd}^{-1}$), i el TT donde se produce un cambio en la tasa de acumulación de agua, j es la tasa de acumulación de agua durante la segunda fase ($\text{mg grano}^{-1} \text{ } ^{\circ}\text{Cd}^{-1}$), k el TT donde se alcanza el MCAG ($^{\circ}\text{Cd}$), y l es la tasa de pérdida de agua desde el MCAG hasta madurez fisiológica ($\text{mg grano}^{-1} \text{ } ^{\circ}\text{Cd}^{-1}$).

La concentración de humedad en el grano a madurez fisiológica (CHMF) se determinó mediante un modelo bi-lineal que relaciona PG_E y CH del grano (Borrás et al., 2009) (Ec. 3.8 y 3.9):

$$\text{PG}_E = m - n CH \quad \text{para } CH \geq o \quad (3.8)$$

$$\text{PG}_E = m - no \quad \text{para } CH < o \quad (3.9)$$

donde CH es la concentración de humedad en el grano ($\text{g kg}^{-1} \text{ grano}^{-1}$), m es la intercepción sobre el eje Y (mg grano^{-1}), n es la tasa con la que cae la CH durante el llenado de grano ($\text{mg g}^{-1} \text{ kg}^{-1}$), y o es la CHMF ($\text{g kg}^{-1} \text{ grano}^{-1}$).

La tasa de desecación del grano (TDG) se estimó usando un modelo de regresión lineal que relaciona la CH y el TT para valores de CH desde 80 hasta 30% (Alvarez Prado et al., 2013a) (Ec. 3.10):

$$CH = p + q TT \quad (3.10)$$

donde p es la intercepción sobre el eje Y (g kg^{-1}) y q la tasa de desecación del grano ($\text{g kg}^{-1} \text{ } ^{\circ}\text{Cd}^{-1}$). Si bien q posee signo negativo, a los fines prácticos la TDG se expresó en valores positivos.

Todos los modelos fueron significativos ($P < 0,01$), con valores de r^2 entre 0,76 y 0,99, y un promedio de 0,94. Además se evaluaron los siguientes TCP_{PC} , $\text{TCP}_{\text{PC}} \text{ grano}^{-1}$, CP_{PLLE} , $\text{CP}_{\text{PLLE}} \text{ grano}^{-1}$, NGP y PG_M (calculado como el cociente entre RGP y NGP) según se describiera en el Capítulo 2.

3.2.4. Análisis estadístico

Los valores estimados de las combinaciones Genotipo \times Repetición \times Año \times N de cada grupo genotípico (línea e híbrido) y para cada uno de los atributos evaluados se caracterizaron inicialmente en sus valores promedio y rangos mediante estadística descriptiva.

Para cada atributo se llevó a cabo un análisis estadístico usando PROC MIXED en SAS (versión 9.4; SAS Institute, 2015). Con el propósito de analizar la variabilidad de los componentes genético, ambiental, y la interacción entre ambos, se usó un modelo que consideró al ambiente (i.e. combinación de año experimental y nivel de N) e híbrido como factores de efectos fijos, y al bloque como factor aleatorio (Zhang y Kang, 1997) (Ec. 3.11):

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j(\alpha_i) + \gamma_{kl} + \alpha_i\gamma_{kl} + \varepsilon_{ijkl} \quad (3.11)$$

donde Y_{ijkl} es el valor de cada atributo correspondiente al i -ésimo ambiente ($i = 4$), j -ésimo bloque ($j = 3$), y kl -ésimo híbrido ($kl = 30$); μ es la media general; α_i el efecto del ambiente; $\beta_j(\alpha_i)$ el efecto del bloque anidado dentro del ambiente; γ_{kl} el efecto del híbrido F₁; $\alpha_i\gamma_{kl}$ es el efecto de interacción entre el ambiente y el híbrido F₁; ε_{ijkl} es el error residual. A su vez, el efecto del híbrido se particionó en distintas fuentes de variación (Griffing 1956; Zhang y Kang, 1997) (Ec. 3.12):

$$y_{kl} = g_k + g_l + s_{kl} + r_{kl} \quad (3.12)$$

donde Y_{kl} es el valor de cada atributo correspondiente al kl -ésimo híbrido ($kl = 30$); g_k el efecto de ACG del parental kmo ; g_l el efecto de ACG del parental lmo ; s_{kl} el efecto de ACE del $klmo$ híbrido F₁, y r_{kl} el efecto REC del cruzamiento entre el parental kmo y lmo . Las significancias de ACG, ACE y REC se calcularon usando sus correspondientes interacciones con el ambiente (A) como términos del error (Betrán 2003b). Las significancias de las interacciones ACG \times A, ACE \times A, y REC \times A se determinaron usando el error residual. Se utilizó el modelo 1 de Giffing (1956) de efectos fijos y el Método 3 del análisis dialélico (Yao et al., 2013). Dicho análisis se llevó a cabo usando el programa DIALLEL-SAS05 (Zhang et al., 2005). Los cuadrados medios de la ACG y ACE correspondientes al análisis de varianza se calcularon considerando un modelo de efectos fijos (Baker, 1978). Esto se computó a lo largo de todos los ambientes, al igual que para cada nivel de N (N0 y N1) por separado. Así, la proporción de varianza aditiva (VA) se obtuvo como (Ec. 3.13):

$$VA = \frac{2\hat{\sigma}_{ACG}^2}{2\hat{\sigma}_{ACG}^2 + \hat{\sigma}_{ACE}^2} \quad (3.13)$$

donde $\hat{\sigma}_{ACG}^2$ y $\hat{\sigma}_{ACE}^2$ son los componentes de la varianza de ACG y ACE, respectivamente. La heredabilidad en sentido amplio (H^2) de cada atributo se calculó en base a la media, según Holland et al. (1998; 2003). La heterosis de padre medio (HPM) se computó para cada carácter como la superioridad relativa del híbrido F₁ en relación al comportamiento promedio de sus parentales (Lee et al., 2007) (Ec. 3.14):

$$HPM (\%) = \frac{F_1 - PM}{PM} \times 100 \quad (3.14)$$

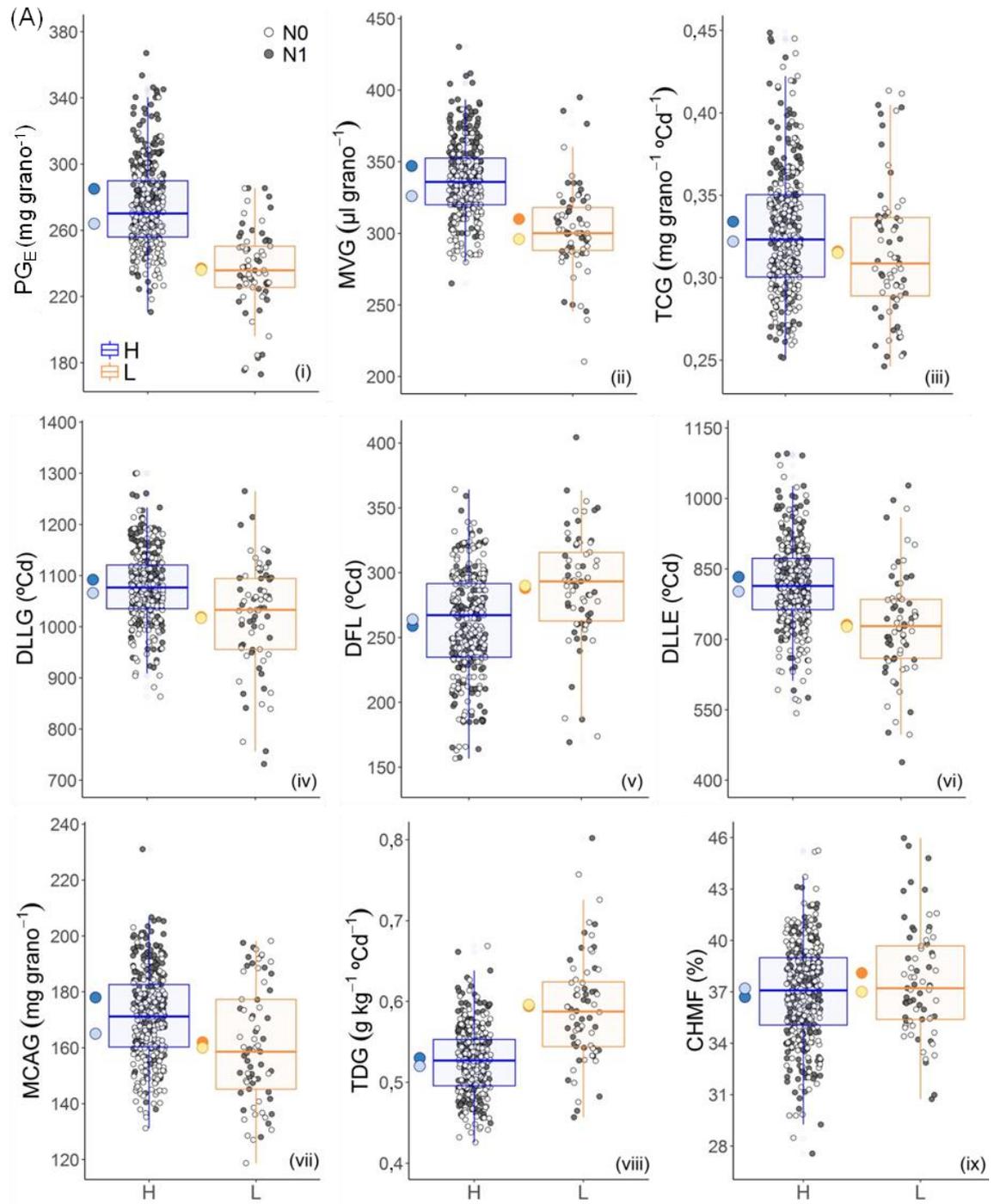
donde F_1 es el desempeño promedio del híbrido y PM el valor parental medio, $PM = (P_1 + P_2)/2$; P_1 y P_2 corresponden al valor promedio de cada línea parental. Tanto los valores de VA , H^2 y HPM se calcularon a lo largo de todos los ambientes, así como también para cada nivel de N (N_0 y N_1) por separado.

3.3. Resultados

3.3.1. Caracterización fenotípica

La segregación de los híbridos fue unidireccional positiva (i.e. exploró rangos y valores medios más altos que sus parentales) en la mayoría de los atributos (Fig. 3.1). La excepción a esta tendencia se verificó (i) para los rasgos DFL, TDG y CHMF, en que fue unidireccional negativa; y (ii) para la TCP_{PC} grano⁻¹, donde los valores fenotípicos de los híbridos no superaron en ninguna dirección al de sus parentales, dando lugar a medias similares (Fig. 3.1). Sin embargo, no se observó segregación transgresiva de los híbridos en ninguno de los atributos (Fig. 3.1).

Respecto a la condición de N , para el PG_E y sus determinantes fisiológicos (Fig. 3.1A) las líneas no presentaron diferencias entre niveles de N , excepto para MVG y CHMF, que aumentaron en N_1 (Fig. 3.1A ii, ix). Por el contrario, en los híbridos se observó un aumento en los valores de la mayoría de los atributos en N_1 (excepto para DFL y CHMF), destacándose el incremento de rasgos como PG_E , MVG y MCAG (Fig. 3.1A i, ii, vii). Para los atributos de crecimiento de la planta, relaciones fuente-destino y componentes del rendimiento (Fig. 3.1B), las diferencias entre niveles de N tendieron a ser más evidentes que para los determinantes fisiológicos del PG_E . En ambos grupos de genotipos se detectó un incremento en N_1 en casi todos los rasgos de este conjunto (Fig. 3.1B), excepto en la TCP_{PC} grano⁻¹ para los híbridos (Fig. 3.1B i) y en el CP_{PLLE} grano⁻¹ y el PG_M en las líneas (Fig. 3.1B iv, vi). De todas maneras, la magnitud de la respuesta al aumento en la oferta de N en los híbridos fue sustancialmente mayor que la observada para las líneas.



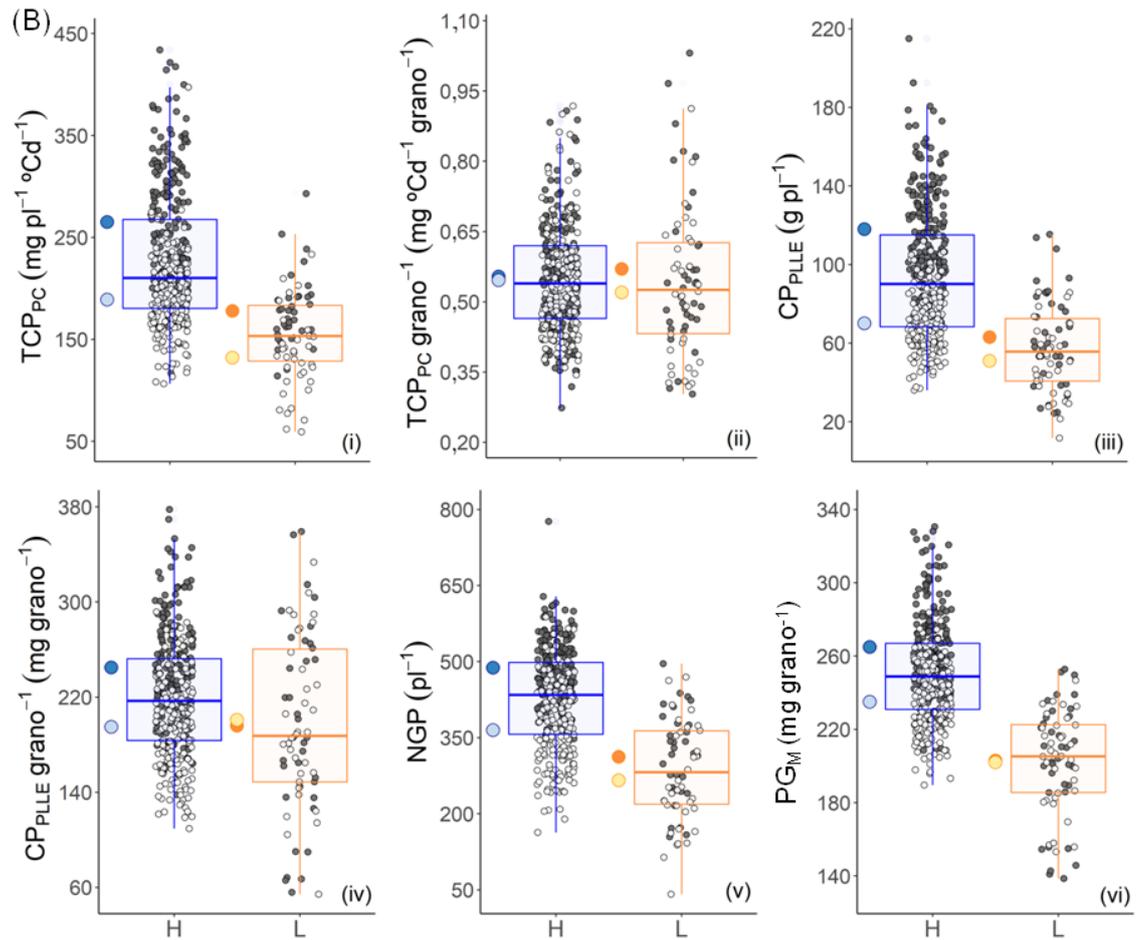


Figura 3.1. Datos primarios y estadísticos descriptivos de (A) el peso de grano estimado (PG_E) y sus caracteres secundarios, y (B) los atributos asociados con el crecimiento de la planta, la relación fuente-destino y componentes del rendimiento en grano. Los datos corresponden a híbridos (H, $n = 360$) y líneas (L, $n = 72$) cultivados durante dos años experimentales (2013/14 y 2014/15) en dos niveles de N (N0, sin el agregado de fertilizante; N1, fertilizado con 200 kg N ha^{-1}). Cada punto representa una combinación de genotipo \times repetición \times nivel de N \times año experimental. Los círculos de mayor tamaño corresponden al promedio de cada condición de N (N0: claros, N1: oscuros) para cada grupo genotípico. Las líneas horizontal inferior, superior y central de la caja representan los percentiles 25°, 75° y 50°, respectivamente. CHMF: concentración de humedad a madurez fisiológica; CP_{PLLE} : crecimiento por planta durante el período de llenado efectivo; DFL: duración de fase *lag*; DLLL: duración del período de llenado efectivo del grano; DLLG: duración total del llenado del grano; MCAG: máximo contenido de agua del grano; MVG: máximo volumen del grano; NGP: número de granos por planta; PG_E : peso de grano estimado; PG_M : peso medio de grano; TCG: tasa de crecimiento del grano; TCP_{PC} : tasa de crecimiento por planta durante el período crítico; TDG: tasa de desecación del grano.

Se observó un efecto consistente ($P < 0,05$) del híbrido (H) y del ambiente (A) tanto sobre el PG_E y sus determinantes fisiológicos (Cuadro 3.1), como sobre los componentes del rendimiento (PG_M y NGP) y atributos asociados a la relación fuente-destino (Cuadro 3.2). Sin embargo, la magnitud del efecto ambiental fue mucho más grande que la del híbrido, lo que resultó evidente cuando se calcularon las proporciones de los efectos de cada uno de los factores. Así, para el grupo de atributos conformado por el PG_E y sus componentes fisiológicos, las magnitudes promedio de los efectos del híbrido y del ambiente fueron del 19 y 73%, respectivamente, mientras que el 8% restante representó el efecto de interacción entre ambos efectos principales (i.e. $H \times A$).

No obstante, resulta importante distinguir entre los rasgos (DLLG y DLLE) en los cuales las magnitudes del H y A resultaron similares (37 y 45% para H y A, respectivamente) respecto de aquellos (PG_E , MVG, TCG, MCAG, TDG, CHMF) en que las diferencias entre ambos efectos fueron mucho más notorias ($H = 13\%$, $A = 83\%$). Asimismo, la DFL fue el único en el que se observó el patrón inverso (i.e. superioridad del efecto del híbrido sobre el del ambiente, Cuadro 3.1). Por su parte, para el conjunto de atributos de crecimiento de la planta, relación fuente-destino y componentes del rendimiento, las diferencias promedio entre las magnitudes del H y A fueron más marcadas aún que las observadas para los rasgos del peso de grano ($H = 3\%$, $A = 96\%$), y sólo el 1% correspondió al componente de interacción $H \times A$. A pesar de esto último, los efectos principales de H y A estuvieron influenciados por interacciones $H \times A$ significativas ($P < 0,05$; Cuadros 3.1 y 3.2), excepto en la TDG. Este rasgo a su vez presentó, junto con el NGP, el mayor valor del efecto del híbrido relativo a su componente de interacción con el ambiente ($H/H \times A$; Cuadros 3.1 y 3.2).

Cuadro 3.1. Cuadrados medios del análisis de varianza correspondientes al híbrido (H), ambiente (A) e interacción $H \times A$ para el peso del grano estimado (PG_E) y sus determinantes fisiológicos, evaluados en un diseño dialéctico completo en cuatro ambientes. Los ambientes son el resultado de la combinación de dos años experimentales (2013-14 y 2014-15) y dos condiciones de N (N0 y N1).

Atributo	H	A	$H \times A$	H / $H \times A$
PG_E^a (mg grano ⁻¹)	1977*** ^b	21865***	772***	2,6
MVG (µl grano ⁻¹)	1748***	16687***	938***	1,9
TCG (mg grano ⁻¹ °Cd ⁻¹)	0,0043***	0,0202***	0,0020***	2,1
DLLG (°Cd)	13876***	17939***	6361***	2,2
DFL (°Cd)	5429***	2562*	1662***	3,3
DLLE (°Cd)	23704***	26975**	11303***	2,1
MCAG (mg grano ⁻¹)	1003***	5534***	293***	3,4
TDG (g kg ⁻¹ grano ⁻¹ °Cd ⁻¹)	0,0093***	0,0248**	0,0010 ns	9,3
CHMF (%)	15,1***	285***	6,7*	2,2
<i>gl</i>	29	3	87	

^aCHMF: concentración de humedad a madurez fisiológica; DFL: duración de fase *lag*; DLLE: duración del llenado efectivo del grano; DLLG: duración total del llenado del grano; *gl*: grados de libertad; MCAG: máximo contenido de agua del grano; MVG: máximo volumen del grano; TCG: tasa de crecimiento del grano; TDG: tasa de desecación del grano.

^b*, **, *** representa valores *P* significativos al 0,05; 0,01; y 0,001, respectivamente. ns: no significativo.

Cuadro 3.2. Cuadrados medios del análisis de varianza correspondientes al híbrido (H), ambiente (A) e interacción $H \times A$ para los componentes del rendimiento, crecimiento de la planta y relación fuente-destino, evaluados en un diseño dialéctico completo en cuatro ambientes. Los ambientes son el resultado de la combinación de dos años experimentales (2013-14 y 2014-15) y dos condiciones de N (N0 y N1).

Atributo	H	A	$H \times A$	H / $H \times A$
TCP _{PC} ^a (mg pl ⁻¹ °Cd ⁻¹)	6475***	328898***	1386***	4,7
TCP _{PC} grano ⁻¹ (mg °Cd ⁻¹ grano ⁻¹)	0,028***	0,758***	0,009***	3,1
CP _{PLLE} (g pl ⁻¹)	914***	83039***	407***	2,2
CP _{PLLE} grano ⁻¹ (mg grano ⁻¹)	5804***	107027***	1895***	3,1
PG _M (mg grano ⁻¹)	1198***	41975***	547***	2,2
NGP (pl ⁻¹)	24610***	657983***	3011***	8,2
<i>gl</i>	29	3	87	

^aCP_{PLLE}: crecimiento por planta durante el período de llenado efectivo; CP_{PLLE} grano⁻¹: CP_{PLLE} por grano; *gl*: grados de libertad; NGP: número de granos por planta; PG_M: peso medio de grano; TCP_{PC}: tasa de crecimiento por planta durante el período crítico para la fijación de granos; TCP_{PC} grano⁻¹: TCP_{PC} por grano.

^b*, **, *** representa valores *P* significativos al 0,05; 0,01; y 0,001, respectivamente. ns: no significativo.

3.3.2. Heredabilidad y componentes de aptitud combinatoria

Los valores de heredabilidad en sentido amplio (H^2), estimados a lo largo de todos los ambientes, oscilaron entre niveles medios y altos ($H^2 = 0,46 - 0,90$; Cuadros 3.3 y 3.4). Entre los determinantes fisiológicos del PG se destacó la TDG, con los valores más altos de heredabilidad ($H^2 = 0,90$), seguida por el MCAG y DFL ($H^2 \sim 0,70$). Para el resto de los rasgos, los valores de heredabilidad fueron intermedios (H^2 entre 0,46 y 0,56; Cuadro 3.3). Entre los atributos asociados con crecimiento de la planta, relación fuente-destino y componentes del rendimiento, los que presentaron los mayores valores de heredabilidad fueron el NGP y la TCP_{PC} ($H^2 = 0,88$ y 0,79, respectivamente), y los de menor heredabilidad el PG_M y el CP_{PLLE} ($H^2 \sim 0,55$).

Cuadro 3.3. Cuadrados medios correspondientes a la aptitud combinatoria general (ACG), específica (ACE), efecto del cruzamiento recíproco (REC) y sus interacciones con el ambiente ($ACG \times A$, $ACE \times A$, $REC \times A$), y heredabilidad en sentido amplio (H^2) para el peso del grano estimado (PG_E) y sus determinantes fisiológicos, evaluados en un diseño dialélico completo en cuatro ambientes. Para la descripción de los atributos referirse a la Cuadro 3.1.

Atributo	ACG	ACE	REC	$ACG \times A$	$ACE \times A$	$REC \times A$	H^2
PG_E (mg grano ⁻¹)	4525 ^{*a}	3512 ^{**}	299	1446 ^{***}	835 ^{***}	499 [*]	0,61
MVG (μl grano ⁻¹)	5669	1695	508	2853 ^{***}	821 ^{***}	354 ^{**}	0,46
TCG (mg grano ⁻¹ °Cd ⁻¹)	0,011	0,002	0,003	0,006 ^{***}	0,001 [*]	0,001 ^{**}	0,52
DLLG (°Cd)	15825	15551 ^{***}	11194	7215 ^{**}	4498	7309 ^{***}	0,55
DFL (°Cd)	19522 ^{**}	2255	2504	3881 ^{***}	1134	1268	0,69
DLLE (°Cd)	37647	19508 [*]	21323	17496 ^{***}	7153	11985 ^{***}	0,52
MCAG (mg grano ⁻¹)	3880 [*]	771 ^{***}	187	897 ^{***}	233 ^{***}	112	0,71
TDG (g kg ⁻¹ grano ⁻¹ °Cd ⁻¹)	0,044 ^{***}	0,004 ^{**}	0,001	0,002 ^{**}	0,001 ^{***}	0,001	0,90
CHMF (%)	47,8 ^{***}	12,4 [*]	6,0	5,8	4,9	8,3 ^{**}	0,56

^a*, **, *** representa valores P significativos al 0,05; 0,01; y 0,001, respectivamente. ns: no significativo.

Como resultado del análisis de los efectos genéticos a través de ambientes, el componente de aptitud combinatoria general (ACG) superó ampliamente al de aptitud combinatoria específica (ACE) en la mayoría de los atributos, menos en el CP_{PLLE} (Cuadros 3.3 y 3.4). La ACG fue significativa para el PG_E , pero no se detectó efecto ($P > 0,05$) para sus principales determinantes fisiológicos (i.e. MVG, TCG y DLLG). Por el contrario, sí hubo efectos significativos de ACG para DFL, MCAG, TDG y CHMF (Cuadro 3.3). No obstante, el componente de ACG estuvo influenciado por el ambiente (interacción $ACG \times A$ significativa) en todos los atributos, excepto en la CHMF. Respecto del componente de ACE, se observaron efectos significativos tanto para el PG_E como para la mayoría sus determinantes (excepto para MVG, TCG y DFL). En relación al componente de cruzamientos recíprocos (REC), no se detectaron efectos ($P > 0,05$) para ningún atributo (Cuadro 3.3).

En el caso de los atributos de crecimiento de la planta, relación fuente-destino y componentes del rendimiento, se observó para la mayoría de los rasgos un efecto consistente ($P < 0,05$), tanto de la ACG (menos para CP_{PLLE}), como de la ACE (excepto para CP_{PLLE} grano⁻¹ y PG_M). A su vez, las interacciones $ACG \times A$ fueron significativas para todos los caracteres, mientras que las de $ACE \times A$ lo fueron sólo para CP_{PLLE} grano⁻¹, NGP y PG_M . En concordancia con lo mencionado previamente para los determinantes del PG_E , tampoco se detectó efecto del REC ($P > 0,05$) en ninguno de los atributos evaluados (Cuadro 3.4).

Cuadro 3.4. Cuadrados medios correspondientes a la aptitud combinatoria general (ACG), específica (ACE), efecto del recíproco (REC) y sus interacciones (ACG \times A, ACE \times A, REC \times A), y heredabilidad en sentido amplio (H^2) para los componentes del rendimiento, crecimiento de la planta y relación fuente-destino, evaluados en un diseño dialéxico completo en cuatro ambientes. Para la descripción de los atributos referirse a la Cuadro 3.2.

Atributo	ACG	ACE	REC	ACG \times A	ACE \times A	REC \times A	H^2
TCP _{PC} (mg pl ⁻¹ °Cd ⁻¹)	28896*** ^a	3017*	1077	1782**	1135	1405**	0,79
TCP _{PC} grano ⁻¹ (mg °Cd ⁻¹ grano ⁻¹)	0,100*	0,024**	0,006	0,025***	0,005	0,007**	0,66
CP _{PLLE} (g pl ⁻¹)	885	1736***	431	910***	310	298*	0,55
CP _{PLLE} grano ⁻¹ (mg grano ⁻¹)	26667***	2184	1021	4133***	1647**	1298*	0,67
NGP (pl ⁻¹)	105980***	15116***	3183	6160***	3500***	1667	0,88
PG _M (mg grano ⁻¹)	5507*	629	104	1704***	373**	266	0,54

*^a, **, *** representa valores *P* significativos al 0,05; 0,01; y 0,001, respectivamente. ns: no significativo.

3.3.3. Magnitud de la aptitud combinatoria y heterosis en condiciones contrastantes de nitrógeno

Como consecuencia de la superioridad del componente de ACG sobre el de ACE (Cuadros 3.3 y 3.4), la proporción de varianza genética aditiva (VA) promedio de todos los atributos y a lo largo de los ambientes evaluados fue alta (VA = 0,86). Asimismo, la proporción de VA fue mayor en la condición N0 (Fig. 3.2) en casi todos (13 de 15) los atributos analizados (menos en DLLG y TCP_{PC} grano⁻¹). Es importante resaltar que el incremento en la proporción de VA en N0 se debió sobre todo a la disminución del componente de ACE en dicha condición de N (Fig. 3.3), el cual se redujo consistentemente en todos los atributos (excepto en la TCP_{PC} grano⁻¹). Dicha caída osciló entre el 13 y el 87% dependiendo del atributo considerado, promediando el 53%.

El PG_E y la DLLG expresaron en promedio la menor proporción de VA (ca. 0,70), mientras que DFL y TDG tuvieron los valores más altos (0,95). Por su parte, el MVG, la CHMF y la DFL experimentaron la mayor caída en sus valores de VA con el aumento en la oferta de N (-25, -22 y -18%, respectivamente; Fig. 3.2A). Esto concuerda con la gran diferencia (i.e. amplitud) entre las proporciones de ACG (positivas) y ACE (negativas) relativas a N0 para dichos atributos (Fig. 3.3A). Por el contrario, la DLLG y la DLLE experimentaron la menor caída relativa del componente de ACE entre niveles de N (Fig. 3.3A).

Cuando se evaluó la proporción de VA para los componentes del crecimiento de la planta, los componentes del rendimiento y los asimilados disponibles por grano, las diferencias entre niveles de N, en promedio, tendieron a ser menos marcadas (VA_{N0}: 0,89 vs. VA_{N1}: 0,85, Fig. 3.2B) que para el PG_E y sus determinantes (VA_{N0}: 0,85 vs. VA_{N1}: 0,77, Fig. 3.2A). Las proporciones de VA promedio más altas correspondieron al CP_{PLLE} grano⁻¹, TCP_{PC}, PG_M y NGP (0,96, 0,95, 0,95 y 0,93, respectivamente), destacándose además, para los tres primeros, el valor alto de VA en N0 (0,98) (Fig. 3.2B). Por el contrario, el CP_{PLLE} tuvo la menor proporción de VA promedio (0,50) y, al igual que para TCP_{PC} grano⁻¹ y PG_M, se observó la mayor diferencia en sus valores de VA entre condiciones de N (Fig. 3.2B). Es destacable la disminución del valor relativo del componente de ACE en N0 para TCP_{PC} y NGP, la cual fue la de mayor y menor

magnitud, respectivamente; mientras que en el componente de ACG se observó el mismo patrón (mayor y menor caída) para TCP_{PC} grano⁻¹ y CP_{PLLE} grano⁻¹, respectivamente (Fig. 3.3B).

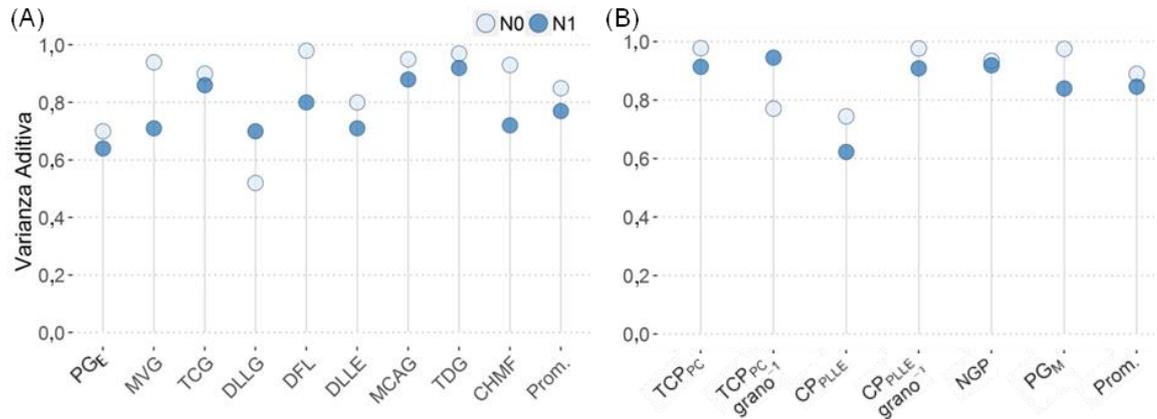


Figura 3.2. Proporción de la varianza genética total atribuible a la acción génica aditiva para (A) PG_E y sus determinantes fisiológicos, y (B) atributos de crecimiento de la planta, relación fuente-destino y componentes del rendimiento, evaluados durante dos años experimentales (2013-14 y 2014-15) en dos niveles de nitrógeno (N0 y N1). Prom. corresponde al promedio de todos los atributos. Para una descripción detallada de los caracteres referirse a la Fig. 3.1.

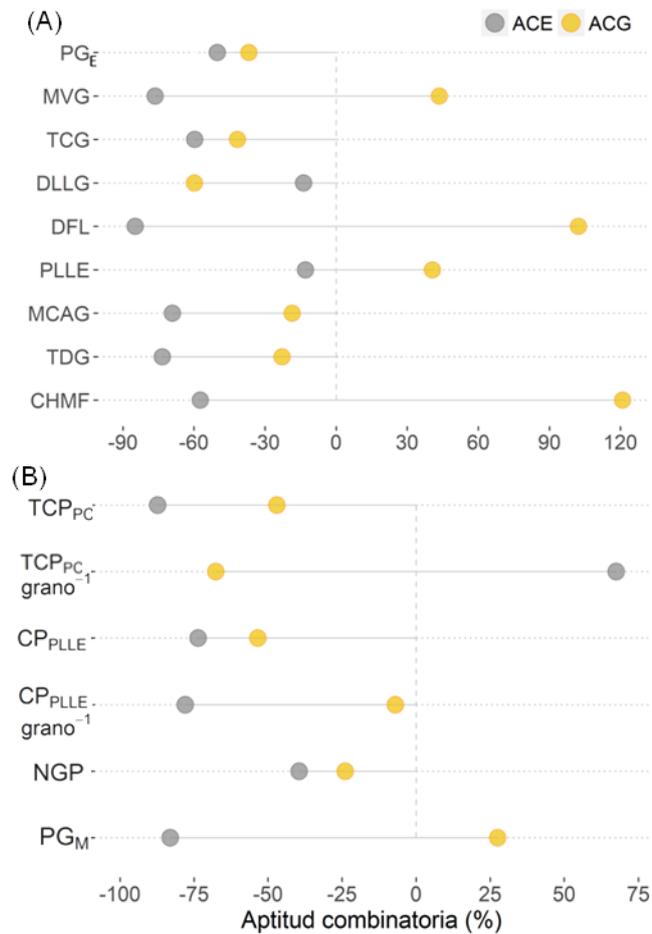


Figura 3.3. Valores porcentuales de aptitud combinatoria general (ACG) y específica (ACE) (A) PG_E y sus determinantes fisiológicos, y (B) atributos de crecimiento de la planta, relación fuente-destino y componentes del rendimiento, relativos a la condición N0, calculados como la diferencia relativa entre ambos niveles de nitrógeno $[(N0-N1)/N0]$. Los datos corresponden a

dos años experimentales (2013-14 y 2014-15). Para una descripción detallada de los atributos referirse a la Fig. 3.1.

Los niveles de heterosis fueron mayores con alta disponibilidad de N en casi todos los atributos (con excepción de la TDG y la TCP_{PC} grano⁻¹, Fig. 3.4). Esto se opone al patrón de respuesta detallado previamente para la proporción de VA (valores más altos en N0 que en N1). En comparación con sus determinantes fisiológicos, el PG_E expresó no sólo la mayor heterosis a lo largo de todos los ambientes (HPM: 17%), sino también la mayor diferencia entre niveles de N (HPM_{N0}: 13% vs. HPM_{N1}: 22%, Fig. 3.4A). Por el contrario, la TCG y la CHMF fueron los rasgos con menor expresión de sus efectos heteróticos (4,2 y -1,3%, respectivamente); mientras que DLLL, MVG y TDG presentaron valores intermedios (13, 12 y -11%, respectivamente). Además, la DLLL y el MCAG expresaron las mayores diferencias para heterosis entre niveles de N, aunque las mismas fueron de baja magnitud (ca. 5%, Fig. 3.4A). En oposición a la presencia de heterosis positiva observada para los rasgos asociados con la duración del llenado (DLLG y DLLL), la heterosis de la DFL fue negativa en ambas condiciones de N (Fig. 3.4A).

Para los rasgos del crecimiento de la planta, componentes del rendimiento y asimilados disponibles por grano, los niveles de heterosis promedio (i.e. a través de todos los atributos) fueron comparativamente más elevados que los descritos anteriormente y muy distintos entre condiciones de N (N0: 27% vs. N1: 45%, Fig. 3.4B). Entre los atributos evaluados se destacan (i) el CP_{PLLE} (76%), la TCP_{PC} (50%) y el NGP (44%) con los niveles de heterosis promedio más altos, y (ii) la TCP_{PC} grano⁻¹ con los niveles más bajos (4,3%). Asimismo, los atributos presentaron respuestas diferentes en sus niveles de heterosis ante cambios en la disponibilidad de N. En este sentido, la TCP_{PC} logró valores de heterosis similares entre niveles de N (HPM: 50%); en contraste con lo observado para CP_{PLLE} (HPM_{N0}: 49% vs. HPM_{N1}: 102%), CP_{PLLE} grano⁻¹ (HPM_{N0}: 0,1% vs. HPM_{N1}: 35%) y PG_M (HPM_{N0}: 17% vs. HPM_{N1}: 32%), los cuales tuvieron una alta respuesta al aumento en la disponibilidad de N.

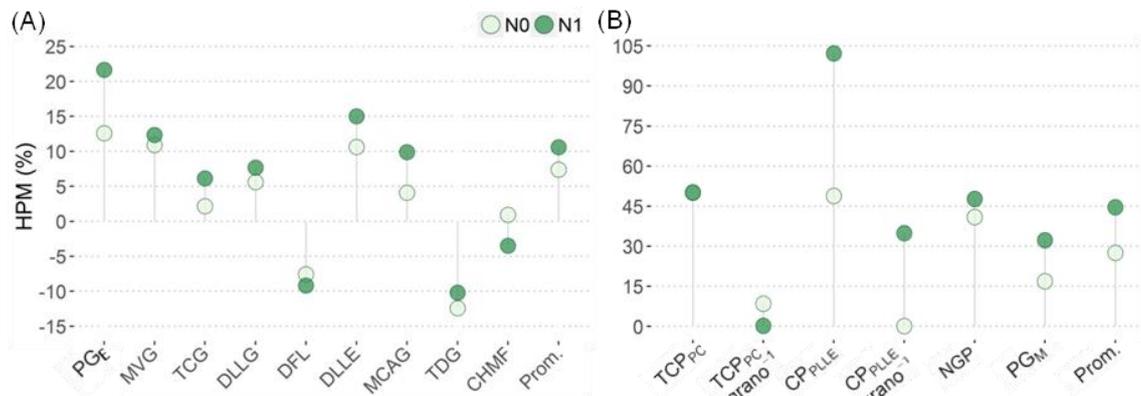


Figura 3.4. Valores de heterosis de padre medio (HPM) para (A) PG_E y sus determinantes fisiológicos, y (B) atributos de crecimiento de la planta, relación fuente-destino y componentes del rendimiento, evaluados durante dos años experimentales (2013-14 y 2014-15) en dos niveles de nitrógeno (N0 y N1). Prom. corresponde al promedio de todos los atributos. Para una descripción detallada de los caracteres referirse a la Fig. 3.1.

3.4. Discusión

En el presente capítulo se caracterizó el modo de acción génica subyacente a la expresión del PG mediante el análisis de los efectos de aptitud combinatoria y heterosis de los caracteres fisiológicos asociados. Dicho enfoque se extendió además a los

atributos de crecimiento, relación fuente-destino de las fases reproductivas, y componentes del rendimiento. El material genético utilizado permitió explorar una gran variabilidad fenotípica (Fig. 3.1), producto de la amplia variabilidad genética dada no sólo por el considerable número de genotipos empleado ($n=36$), sino principalmente como consecuencia del fondo genético (amplio) de las líneas endocriadas evaluadas, con germoplasma americano templado tipo semi-dentado, argentino tipo flint y semiflint caribeño. La caracterización se llevó a cabo en ambientes contrastantes, dados tanto por manipulación en los niveles de N como por cambios en las condiciones naturales de radiación y temperatura durante el período crítico y de llenado efectivo del grano (variabilidad interanual). Esto permitió no sólo incrementar la robustez de los resultados referidos a los efectos génicos preponderantes, sino también poder evaluar la consistencia de dichos efectos a lo largo de los ambientes.

El componente de ACG superó ampliamente al de ACE en la mayoría de los atributos (excepto en el CP_{PLLE}), lo que sugiere que el tipo de acción génica preponderante fue la aditiva (Rojas y Sprague, 1952); sin embargo, los efectos de ACG variaron consistentemente con el ambiente ($P < 0,05$ para la interacción $ACG \times A$). En este sentido, llama la atención que no sólo la proporción de varianza aditiva promedio de todos los atributos y a lo largo de todos los ambientes fue elevada, sino que además dicha varianza fue mayor en los ambientes más desfavorables (excepto para DLLG y TCP_{PC} grano⁻¹), correspondientes a los de baja oferta de N (Fig. 3.2). Este hallazgo permite cuestionar lo reportado previamente respecto de las implicancias negativas de aplicar selección en ambientes sub-óptimos, a los cuales se asocia con disminuciones en la varianza genética y en los niveles de heredabilidad (Blum, 1988; Richards, 1996; Araus et al., 2002) debido a su mayor heterogeneidad intra-sitio (Baenziger et al., 2006). Es cierto que si se consideran los efectos genéticos totales como la sumatoria entre ambas habilidades combinatorias (i.e. $ACG + ACE$), los mismos tendieron a ser menores en N0 (datos no mostrados); sin embargo, como se mencionó anteriormente, la relación componente aditivo/componente no aditivo fue mayor en la condición de bajo N (Fig. 3.2). Esto se contrapone con lo informado por Betrán et al. (2003b) para rendimiento, cuyos resultados muestran una preponderancia de efectos genéticos no aditivos en la condición de baja oferta de N. No obstante, el rendimiento es un atributo multigénico que expresa una alta interacción genotipo \times ambiente (Jackson et al., 1996), lo que le confiere una alta sensibilidad a la presencia de heterogeneidad a nivel intra-sitio. Frente al problema de la menor uniformidad en los ambientes sub-óptimos, la solución ha sido llevar adelante el proceso de mejoramiento en ambientes de mayor homogeneidad, natural o manipulada (e.g. fertilización y/o riego). Sin embargo, en función de los resultados obtenidos, aplicar mejoramiento en condiciones potenciales implicaría hacerlo sobre una base mayor de efectos no aditivos, lo que determinaría (i) dependencia en la búsqueda de ciertas combinaciones híbridas que expresen favorablemente el rasgo a mejorar, complicando y encareciendo los planes de mejoramiento por la mayor cantidad de cruzamientos necesarios, e (ii) incertidumbre sobre el comportamiento de esas combinaciones en ambientes desfavorables, que comercialmente se subsana incrementando las redes de evaluación y, nuevamente, los costos. En este sentido, quizás la solución más efectiva no resida en eliminar la heterogeneidad del ambiente por completo (i.e. mejoramiento solo en ambientes con disponibilidad de recursos alta), sino simplemente logrando una condición uniforme (e.g. fertilización en bajas dosis), sin que eso implique necesariamente llevarlo a su potencial.

Es importante notar que el incremento en la proporción de varianza aditiva en N0 no necesariamente se debió a un aumento en el componente de ACG en dicha condición

de N (sólo fue mayor en un tercio de los rasgos), pero sí implicó una disminución consistente en el componente de ACE a lo largo de todos los atributos (excepto en la TCP_{PC} grano⁻¹, Fig. 3.3). Esto sugiere una elevada estabilidad del modo de acción génica aditiva a través de ambientes, ya que para la mayoría de los atributos el valor de ACG varió moderadamente (en promedio 35%) entre condiciones de N, excepto para DFL y CHMF (donde se incrementó en ca. 100% en N0). Por el contrario, los efectos no aditivos expresaron una sensibilidad sustancialmente mayor frente a los cambios en el ambiente, variando en promedio un 62% ante modificaciones en los niveles de N. En consecuencia, los cambios en la naturaleza de la varianza genética en respuesta al ambiente estarían influenciados en mayor medida por variaciones en el modo de acción génica no aditiva, maximizándose su magnitud en ambientes sin restricciones. Esto coincide con lo observado para los niveles de heterosis, generalmente asociados con efectos de naturaleza no aditiva (Hallauer y Miranda, 1988). La heterosis no sólo varió fuertemente con la condición de N, sino que su magnitud resultó mucho mayor en N1, en coincidencia con estudios previos para el mismo germoplasma que el usado en esta tesis (D'Andrea et al., 2009; Munaro et al., 2011a).

3.4.1. Peso de grano y sus componentes fisiológicos

El PG_E expresó valores medio-altos de heredabilidad ($H^2 = 0,61$), en concordancia con los reportados por Soleri y Smith (2002), pero menores que los informados en otros estudios tanto en híbridos (Alvarez Prado et al., 2013a), como en líneas recombinantes (Austin y Lee, 1998; Alvarez Prado et al., 2013b; 2014; D'Andrea et al., 2016; Mandolino et al., 2016). La menor heredabilidad del PG en nuestro análisis podría reconocer diferentes causas. Por un lado, el rango de ambientes explorado, el cual no solo incluyó distintos años experimentales sino también niveles contrastantes de N, mientras que en los estudios mencionados la variabilidad ambiental explorada estuvo más acotada (en general solo se incluyeron distintos años experimentales). Por otra parte, el número de híbridos empleados ($n=30$), así como su diversidad genética (combinación de genotipos flint, semiflint y semidentados), fue mucho más amplia en la presente base de datos que en los restantes estudios con híbridos ($n<20$). La heredabilidad del PG fue mayor que la de sus principales determinantes fisiológicos (TCG y DLLG), en concordancia con lo observado en otros estudios (Alvarez Prado et al., 2013b; 2014; Mandolino et al., 2016), lo que sugiere que un atributo más complejo no necesariamente deba expresar heredabilidades menores que uno más simple. Si bien el PG_E tuvo valores significativos de ACG y ACE, expresó la menor proporción de varianza aditiva junto con la DLLG. Trabajos previos han referido valores significativos de ACG y ACE para PG, al igual que preponderancia de efectos génicos aditivos (Katsantonis et al., 1986; Wang et al., 1999; Josue y Brewbaker, 2018); sin embargo, las proporciones de varianza aditiva tendieron a ser un poco más altas ($VA > 0,80$; Fan et al., 2008; Josue y Brewbaker, 2018) que la detectada en nuestro análisis (0,70). De todos modos, en dichos trabajos el germoplasma se evaluó bajo condiciones de crecimiento potenciales, sin explorar ambientes restrictivos como en esta tesis.

La TDG, MCAG y DFL presentaron altos valores de heredabilidad ($H^2 > 0,70$) así como también alta proporción de varianza aditiva ($VA > 0,90$). Además, la TDG fue el único rasgo con ausencia de interacción $H \times A$ ($P > 0,05$). Estudios previos detectaron preponderancia del componente de ACG sobre el de ACE para DFL (Cross, 1975), así como elevada heredabilidad para MCAG (Alvarez Prado et al., 2013b; 2014) y TDG (Alvarez Prado et al., 2013a). No obstante, aún no existía información acerca del modo de acción génica preponderante para la TDG. Dicho atributo expresó también niveles altos de heterosis (ca. 12%) en comparación con el resto de los componentes del PG_E , lo

que indica que los efectos aditivos y los niveles de heterosis no son mutuamente excluyentes, por lo que es posible tener alta heterosis aún con preponderancia de efectos génicos aditivos (Lee et al., 2007). Respecto de la DFL y el MCAG, es necesario señalar que se trata de dos rasgos que se definen en el inicio del llenado, momento en el cual la disponibilidad de N no parecería tener incidencia sobre la oferta de asimilados por grano, pues en primer lugar modula la fijación de granos, propendiendo así a una estabilidad en la relación fuente-destino (ver Cap. 2, ausencia de variación de la TCP_{PC} grano⁻¹). Así, mientras la DFL se asocia sobre todo con procesos de desarrollo (i.e. división de células en el endosperma) relacionados con la definición del tamaño potencial de la semilla, el MCAG refleja dicho potencial hacia el final de la fase *lag* (Borrás et al., 2003; Borrás y Westgate, 2006). Esto se diferencia de lo observado para la DLLG y la DLLE, las cuales expresaron menores valores de heredabilidad y proporción de varianza aditiva (Cuadro 3.3, Fig. 3.2A). Dichos atributos se definen hacia el final del llenado del grano, siendo altamente sensibles a los cambios en las condiciones exploradas durante el mismo que afecten el crecimiento de la planta (Andrade y Ferreiro, 1996). En comparación con los valores de varianza genética aditiva y heredabilidad de TDG, DFL y MCAG, los dos principales determinantes del PG (TCG y DLLG) expresaron niveles de heredabilidad mucho más bajos ($H^2 \sim 0.50$), ACG no significativa, y menor proporción de varianza aditiva (sobre todo en el caso de la DLLG). Estos resultados merecen ser destacados, ya que si se considera la fuerte asociación de DFL y MCAG con la TCG (Cross, 1975; Borrás et al., 2003; Borrás y Westgate, 2006), y la relación entre TDG y DLLG (Westgate, 1994; Gambín et al., 2007), se desprende que dichos rasgos (i.e. TDG, DFL y MCAG) resultarían mucho más beneficiosos que la TCG y la DLLG para ser considerados como atributos secundarios con el fin de mejorar genéticamente el PG.

3.4.2. Componentes del rendimiento, crecimiento por planta y relación fuente-destino

El NGP estuvo entre los rasgos con mayor heredabilidad ($H^2 \sim 0,90$), y el mismo fue seguido por la TCP_{PC} ($H^2 \sim 0,80$). En floración, los individuos fijan el NGP en función del crecimiento de la planta (el cual dependerá a su vez de la oferta de recursos), minimizando así las variaciones en el peso de los mismos (Sadras, 2007; Gambín y Borrás, 2010). Por lo tanto, lo esperable es que la heredabilidad del NGP y atributos de crecimiento de la planta resulte menor que la correspondiente al PG (Sadras y Safler, 2012), contrariamente a lo hallado en este capítulo. En este sentido, y pese a sus altos valores de heredabilidad, tanto el NGP como la TCP_{PC} expresaron una gran sensibilidad a las condiciones ambientales exploradas. Esto se reflejó en la magnitud del componente ambiental de ambos rasgos (A, ca. 96%), la cual fue sustancialmente mayor en comparación con la del componente asociado al genotipo (H, ca. 3%) y de la interacción $H \times A$ (menor al 1%). Tanto la TCP_{PC} como el NGP expresaron una alta proporción de varianza genética aditiva ($VA > 0,90$), y efectos de ACG y ACE significativos, con una amplia superioridad en los valores del primero respecto del segundo. Esto se contrapone con la preponderancia de efectos no aditivos informados para un carácter de herencia compleja como el RG (Gamble, 1962) y su principal componente, i.e. NG (Wang et al., 1999). Sin embargo, cuando se analizan los componentes numéricos que integran el NGP (número de hileras por espiga y número de granos por hilera), las proporciones de varianza aditiva suelen ser elevadas para cada uno de ellos ($VA > 0,80$), con niveles significativos de sus componentes de ACG y ACE (Fan et al., 2008).

La relación fuente-destino durante el llenado (i.e. $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$) y el PG_M tuvieron una elevada proporción de varianza aditiva, y efectos significativos sólo del componente de ACG, lo que sugiere la existencia de un control génico fuertemente aditivo. El $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$ está conformado por dos atributos complejos que se definen en distintos momentos del ciclo del cultivo. Por un lado, el CP_{PLLE} , i.e. entre la finalización de la fase *lag* y la madurez fisiológica. Por el otro, el NGP definido alrededor de floración, el cual se caracterizó por una gran preponderancia de efectos génicos aditivos, como se mencionó en el párrafo anterior. Estudios previos refieren una mayor importancia de la acción génica aditiva para *stay green* (Lee et al., 2005), actividad fotosintética durante el llenado (Ahmadzadeh et al., 2004) y senescencia foliar (Worku et al., 2008), rasgos asociados a la duración del área foliar y determinantes del CP_{PLLE} . Sin embargo, el CP_{PLLE} expresó los menores niveles de heredabilidad y alta prevalencia de acción génica de tipo no aditiva, con efectos significativos sólo del componente de ACE. Esto se reflejó a su vez en los altísimos niveles de heterosis expresados por dicho rasgo, registrándose un incremento sustancial de los mismos en N1. No debe perderse de vista que la producción de biomasa es un carácter complejo, el cual depende de la cantidad de radiación interceptada y de su eficiencia de conversión, respondiendo la primera al tamaño del canopeo y su arquitectura como determinantes de la captura de luz (Maddonni y Otegui, 1996). Por lo tanto, es posible que en caracteres complejos como el CP_{PLLE} la acción génica no aditiva sea en realidad la resultante de una combinación compleja de efectos aditivos para sus atributos determinantes (Sinha y Khanna, 1975; Chapman et al., 2003). Así, sería lógico encontrar una mayor proporción de efectos no aditivos para el CP_{PLLE} , más allá de que en cada uno de sus componentes fisiológicos predomine el modo de acción génica aditiva (Mason y Zuber, 1976; Ahmadzadeh et al., 2004; Lee et al., 2005). No obstante, la alta proporción de efectos aditivos para el $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$, rasgo de mayor complejidad aún, parecería contradecir el razonamiento empleado para el caso del CP_{PLLE} . Una posible explicación a las diferencias en los modos de acción génica entre el CP_{PLLE} y $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$ podría atribuirse al efecto de retroalimentación positivo del número de granos (fuerza de los destinos) sobre la actividad de la fuente durante el crecimiento de los mismos (Reynolds et al., 2005), regulando la oferta de asimilados por grano (relación fuente-destino), sobre todo bajo condiciones desfavorables durante el llenado (Rajcan y Tollenaar; 1999; Reynolds et al., 2004; He et al., 2005). Probablemente, este retrocontrol entre ambos atributos sea el responsable de que el $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$ se mantenga mucho más estable frente a los cambios en el ambiente explorado durante el llenado de los granos que el CP_{PLLE} , lo que se reflejaría en su mayor control genético.

3.5. Conclusiones

En el presente capítulo se indagó acerca del modo de herencia de los atributos evaluados, caracterizando los tipos de acción génica preponderantes. En casi la totalidad de los rasgos predominaron los efectos génicos aditivos (superioridad del componente de ACG sobre el de ACE) y, además, la proporción de varianza genética aditiva fue mayor en la condición de baja oferta de N. Dicho incremento en N0 estuvo dado en mayor medida por una disminución notable en el componente de ACE, el cual expresó una alta sensibilidad al cambio en la disponibilidad de N. El mismo patrón se observó para los niveles de heterosis, los cuales aumentaron de manera notoria en N1.

El PG_E tuvo la menor proporción de varianza génica aditiva en comparación con sus componentes fisiológicos, reflejando la importancia del uso de atributos secundarios para lograr un mayor PG. Entre los rasgos secundarios, TDG, DFL y MCAG expresaron los mayores niveles de heredabilidad y varianza genética aditiva, superando a los dos

principales determinantes del PG (TCG y DLLG). Así, la TDG, la DFL y el MCAG resultarían mucho más beneficiosos que la TCG y la DLLG para ser considerados como atributos secundarios cuando el objetivo es mejorar genéticamente el PG, tanto en ambientes potenciales como en ambientes con deficiencias de N. Por su parte, el NGP y la TCP_{PC} expresaron, pese a su gran sensibilidad a las condiciones ambientales, altos valores de heredabilidad y proporción de varianza aditiva. Lo mismo se observó para el CP_{PLLE} grano⁻¹ y el PG_M , los cuales exhibieron un control génico fuertemente aditivo; sin embargo, en el CP_{PLLE} preponderaron los efectos no aditivos y su heredabilidad fue baja. El retrocontrol positivo existente entre el número de granos y la actividad de la fuente durante el crecimiento de los granos sería el responsable de que el CP_{PLLE} grano⁻¹ se mantenga mucho más estable que el CP_{PLLE} frente a los cambios en el ambiente explorado en el llenado. Resta aún conocer cómo se relacionan entre sí los distintos efectos génicos, con el fin de comprender los mecanismos genéticos subyacentes de la expresión del PG.

“Asociaciones genéticas del peso de grano y sus componentes fisiológicos en maíz en ambientes contrastantes en nitrógeno”

4.1. Introducción

El mejoramiento genético tradicional, mediante la selección directa de un rasgo primario, resulta poco eficiente cuando se selecciona por adaptación a ambientes sub-óptimos, debido a la alta variabilidad intra-sitio de los mismos (Baenziger et al., 2006). En consecuencia, la varianza genética y la heredabilidad del rendimiento disminuyen (Blum, 1988; Richards, 1996; Araus et al., 2002). La alternativa para lograr una mayor tolerancia a estreses abióticos, y en consecuencia una mayor estabilidad en el rendimiento, consistió en el desarrollo de materiales tolerantes a altas densidades, característica preponderante en los híbridos actuales (Duvick, 1997; Duvick, 2005; Tollenaar y Lee, 2006). No obstante, llevar adelante el proceso de mejora en ausencia de restricción de recursos (hídricos, nutricionales) implica, en muchos casos, la pérdida de rasgos adaptativos asociados con su captura y eficiencia de uso (Lafitte et al., 1997). Aplicar mejoramiento genético en ambientes sub-óptimos sería ventajoso no sólo en términos de adaptación de rasgos específicos, sino porque además aumentaría la eficiencia del proceso de mejora al seleccionar sobre una base mayor de efectos genéticos aditivos (i.e. predecibles). Esto se desprende de lo expuesto en el capítulo previo de esta tesis, donde se observó, para la mayoría de los rasgos evaluados, un incremento en la proporción de la varianza genética aditiva en los ambientes con baja oferta de N.

La selección indirecta mediante el uso de caracteres secundarios medidos en los ambientes objetivo resulta una opción válida frente a las limitaciones del mejoramiento tradicional (Araus et al., 2002). Muchos caracteres secundarios suelen estar sujetos a menor variabilidad ambiental y, en consecuencia, expresan heredabilidades más altas. La aptitud de un atributo secundario para ser incluido en el proceso de mejora requiere de una serie de características: presencia de variabilidad genética, alta correlación entre los genotipos parentales y su progenie, tener valores medio-altos de heredabilidad, y estar correlacionado con el carácter primario que se pretende mejorar (Falconer y Mackay, 1996; Bänziger et al., 2000; Betrán et al., 2003b; Royo et al., 2005; Araus et al., 2008). En el capítulo anterior se evaluaron algunos de estos puntos al cuantificar los niveles de variabilidad de los atributos de interés y analizar sus valores de heredabilidad y proporciones de los distintos efectos genéticos. Resta aún indagar acerca del grado de correlación entre las líneas parentales y sus híbridos derivados como también sobre las magnitudes y naturaleza de las correlaciones genéticas entre los atributos. El conocimiento de las vías genéticas determinantes de la asociación entre los atributos secundarios y el rasgo primario como de su grado de variación con el ambiente explorado aportará información útil para ser tenida en cuenta en el proceso de mejora con el fin de incrementar su eficiencia.

Respecto de las correlaciones genéticas, se ha encontrado que la heterosis (asociada a efectos genéticos no aditivos) para PG se relaciona principalmente con la heterosis para DLLG (Daynard et al., 1971; Poneleit y Egli, 1979; Alvarez Prado et al., 2013a). Por su parte, Wang et al. (1999) informaron una asociación fuerte y negativa entre los efectos genéticos para ambos componentes del PG (TCG y DLLG). Munaro et al. (2013) encontraron que la ACG para RG se correlacionó positivamente con la correspondiente al PG en ambientes con bajo N, pero con las ACGs para NGP, TCP_{PC} y eficiencia reproductiva en condiciones de alto N, lo que refleja la existencia de distintos patrones de asociación genética según el ambiente explorado. Resta aún profundizar sobre dichos patrones para el PG y sus determinantes fisiológicos, extendiendo el análisis a atributos de crecimiento de la planta y oferta de asimilados por grano durante las etapas reproductivas en ambientes óptimos y deficitarios en N.

Cualquier información de la línea parental que permita predecir el desempeño de su progenie es altamente deseable, ya que reduce la necesidad de llevar adelante

cruzamientos innecesarios y el posterior análisis de una mayor progenie híbrida (Betrán et al., 2003b). Así, resultará de interés conocer el grado de asociación entre el fenotipo de las líneas y su aptitud combinatoria como un indicador del nivel de predicción del comportamiento del híbrido a partir del de sus parentales. En este sentido, Betrán et al. (2003b, c) encontraron para RG una mayor correlación entre el valor *per se* de las líneas y su ACG en condiciones de bajo N que con alta oferta de este nutriente. También hallaron una correlación más alta para los atributos secundarios del RG que para el RG *per se*. No obstante, no existen reportes acerca de dichas correlaciones para el PG y sus determinantes fisiológicos considerando ambientes contrastantes en N. En el presente capítulo se evaluará, para los atributos fisiológicos del peso de grano, la relación fuente-destino y los componentes del rendimiento (i) la aptitud combinatoria general (ACG) de las líneas parentales y el grado de asociación con su fenotipo, (ii) las correlaciones genéticas entre los caracteres evaluados, discriminando a su vez entre los modos de acción génica aditiva (correlaciones ACG-ACG) y no aditiva (correlaciones ACE-ACE), y (iii) la naturaleza directa o indirecta de las correlaciones genéticas. Para ello, se usarán las seis líneas endocriadas detalladas en el Capítulo 2 y sus 30 híbridos simples derivados, utilizando un diseño dialélico completo bajo dos niveles de N contrastantes y en dos años experimentales.

4.2. Materiales y métodos

4.2.1. Material genético, manejo del cultivo y diseño experimental

El conjunto de datos utilizados para el análisis de este capítulo proviene de experimentos dialélicos completos donde se utilizaron 6 líneas endocriadas y sus 30 híbridos simples derivados. Los mismos fueron evaluados en dos niveles de N contrastantes durante dos años. Una descripción detallada de los genotipos utilizados, así como del lugar donde se realizaron los experimentos y el manejo aplicado se encuentran descritos en los Capítulos 2 y 3 de la presente tesis.

4.2.2. Mediciones

Se evaluó el peso de grano estimado (PG_E) y sus determinantes fisiológicos: tasa de crecimiento del grano (TCG), duración total del llenado del grano (DLLG), máximo volumen del grano (MVG), máximo contenido de agua en el grano (MCAG), duración de fase *lag* (DFL), duración del llenado efectivo del grano (DLLE), tasa de desecación del grano (TDG) y concentración de humedad a madurez fisiológica (CHMF). Referirse al Capítulo 3 para una descripción detallada del método de cálculo de dichos atributos. Además se evaluaron los atributos de crecimiento de la planta (TCP_{PC} y CP_{PLLE}), la relación fuente-destino (TCP_{PC} grano⁻¹ y CP_{PLLE} grano⁻¹) y los componentes del RG (NPG y PG_M). El PG_M se obtuvo como el cociente entre el RGP y el NGP. Referirse al Capítulo 2 para una descripción detallada del método de cálculo de cada atributo.

4.2.3. Análisis estadístico

Las estimaciones de las aptitudes combinatorias generales (ACGs) de las líneas endocriadas para cada nivel de N y a lo largo de todos los ambientes (A) se computaron utilizando el modelo 1 de Griffing (1956) de efectos fijos y el Método 3 del análisis dialélico (Yao et al., 2013). Dicho análisis se llevó a cabo usando el programa DIALLEL-SAS05 (Zhang et al., 2005). El grado de asociación entre el valor fenotípico de cada línea y su correspondiente valor de ACG para cada rasgo y nivel de N se computó mediante un análisis de correlación de *Pearson* (r). Asimismo, se calcularon las correlaciones de los valores de ACG de las líneas entre condiciones de N.

Se realizó un análisis de componentes principales sobre la matriz estandarizada de las combinaciones (i) línea \times atributo para los valores de ACG, e (ii) híbrido \times atributo para los valores de aptitud combinatoria específica (ACE). Para una descripción detallada del método de cálculo de las aptitudes combinatorias, referirse al Capítulo 3. Las matrices se contruyeron con las líneas (seis) o los híbridos (15, los cruzamientos recíprocos no se incluyen) ubicados en las filas y los atributos en las columnas. A su vez, los atributos se dividieron en dos grupos: determinantes fisiológicos del PG_E (nueve en total), y componentes asociados al NGP y PG_M (seis en total). Como resultado, se generaron dos matrices para los valores de ACG (6×9 y 6×6) y dos para los de ACE (15×9 y 15×6). Producto de las distintas unidades en la que se expresan los caracteres analizados, se utilizaron los valores estandarizados restándole a cada valor su media y dividiéndolo por su desvío estándar. Los *biplots* se construyeron de manera separada para cada nivel de N y usando los primeros dos componentes principales (CP1 y CP2). Esto permite visualizar si las relaciones entre atributos, entre genotipos, y entre atributos y genotipos se mantienen o varían entre condiciones de N. A su vez, permite conocer qué atributos y genotipos explican en mayor proporción la variabilidad total en cada condición de N. Se usaron sólo los dos primeros componentes principales ya que en todos los casos explicaron en conjunto una alta proporción ($> 70\%$) de la variabilidad total explorada. Los genotipos se representaron como puntos y los atributos como vectores. Genotipos que se encuentran próximos entre sí son similares en sus respuestas específicas para todos los atributos analizados. Para un atributo en particular, los genotipos pueden ser comparados al proyectar una perpendicular desde cada punto correspondiente al genotipo hacia el vector del atributo de interés. Así, genotipos que se ubican más alejados del centro muestran una respuesta relativa mayor para ese atributo (positiva en el sentido del vector y negativa cuando se ubican en su proyección opuesta), y viceversa. Los *biplots* también permiten visualizar la fuerza de las asociaciones entre vectores. Ángulos agudos entre dos vectores indican asociaciones positivas, ángulo recto indica falta de asociación y ángulos mayores a 90° indican asociaciones negativas (Chapman et al., 1997; Kroonenberg, 1997). Si bien las asociaciones se evalúan para los primeros dos componentes principales, pueden eventualmente ser diferentes para otras combinaciones de ejes en el plano de ordenamiento (e.g. CP1 y CP3). El análisis se llevó a cabo usando el paquete *factoextra* (versión 1.0.5) en R 3.4.1 (R Core Development Team, 2018). Asimismo, se calcularon las correlaciones entre las ACGs de los caracteres primarios y los rasgos secundarios para cada condición de N por separado y a lo largo de todos los ambientes. Lo mismo se computó para los efectos de ACE.

Los efectos genéticos de cada híbrido se calcularon a partir de la suma de los efectos individuales de ACG de cada uno de sus parentales y la ACE producto de la combinación particular entre ambos padres (Ec. 3.12). No se tuvieron en cuenta los efectos recíprocos por resultar no significativos ($P > 0,05$) para todos los atributos (ver Capítulo 3). Para caracterizar las relaciones genéticas entre las variables evaluadas con un enfoque causal, se realizaron dos análisis de sendero (Balzarini et al., 2008), uno para el PG_E y otro para el PG_M . En el análisis de sendero se pretende construir modelos de causa-efecto entre las variables respuesta a través de la partición de la correlación entre dichas variables como 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). La construcción de los dos modelos causales (para PG_E y para PG_M) se basó en dos fuentes de información, (i) el conocimiento previo de las asociaciones fisiológicas entre los atributos evaluados (ver Cap. 1), y (ii) los resultados obtenidos a partir de los análisis de ordenamiento y

correlación para los distintos efectos genéticos desarrollados en este capítulo. Asimismo, se cumplió con los requisitos necesarios para desarrollar un análisis de senderos (distribución normal de los residuales, linealidad de las relaciones causales, temporalidad de las relaciones causales).

4.3. Resultados

4.3.1. Aptitud combinatoria general de las líneas y asociación con su fenotipo

Al analizar la ACG de las líneas parentales en cada condición de N, se observó que hubo líneas que se destacaron en sus efectos positivos, mientras que otras sobresalieron por sus efectos negativos en términos del comportamiento de su progenie híbrida (Cuadros 4.1 y 4.2). En general, tanto para el PG_E como para sus componentes fisiológicos, la línea de mayor valor de ACG (en verde, Cuadro 4.1) tendió a destacarse conjuntamente en ambos niveles de N (excepto en el caso de TCG y MCAG). Asimismo, las correlaciones de los valores de ACG entre condiciones de N (i.e. ACG_{N0} vs. ACG_{N1}) fueron intermedias ($r = 0,50 - 0,65$; $P < 0,05$) para MVG, TCG, DLLG, DFL, MCAG y DLLE, y altas ($r = 0,76 - 0,83$; $P < 0,01$) para PG_E , TDG y CHMF. Es necesario hacer una salvedad respecto de lo que sucede con las ACGs de TDG y CHMF, ya que un aumento en el valor de ambos atributos (en valor absoluto para TDG) suele asociarse negativamente con la duración del llenado (ver Cap. 1). Por lo tanto, la línea más favorable para TDG y CHMF sería la de menor ACG para estos rasgos (en rojo, Cuadro 4.1), lo que se mantuvo entre condiciones de N.

Los valores más altos de ACG de cada combinación atributo \times N (en verde, Cuadro 4.1) se repartieron entre tres líneas (LP2, LP561 y LP662); sin embargo, dichas líneas también expresaron los valores más bajos de ACG para algunos atributos. Así, LP2 produjo híbridos superiores ($P < 0,001$) para PG_E (cuyo peso superó al promedio en 9,3 y 12 mg grano⁻¹ en N0 y N1, respectivamente), CHMF (obtuvo el menor valor) y TCG (sobre todo en N1). En contraste, esta línea tuvo en N1 el menor valor de ACG para DLLG y DLLE (en rojo, Cuadro 4.1) y, consecuentemente, el mayor valor de ACG para TDG en dicha condición de N. Respecto de LP561, pese a que también generó descendencia superior para PG_E (aunque en menor magnitud que LP2 y significativamente sólo en N0), esta línea se destacó notablemente en sus niveles de ACG para la duración total de la fase de llenado del grano (DLLG), como así también para el período de llenado efectivo (DLLE). En concordancia con esto último, LP561 expresó el menor valor de ACG para TDG y uno de los menores para CHMF (Cuadro 4.1). Además, la descendencia de dicha línea tuvo en promedio el menor valor de TCG (en rojo), y uno de los más bajos para MCAG y DFL. Por su parte, LP662 también dio híbridos con valores de PG_E mayores al promedio (ACG positiva), y de magnitud similar a LP561 (Cuadro 4.1). Asimismo, LP662 tuvo los valores más altos de ACG ($P < 0,01$) para MVG y DFL en ambos niveles de N, y para TCG, MCAG, TDG y CHMF en N0. En concordancia con la alta ACG para TDG y CHMF, dicha línea expresó la menor ACG para DLLE en N0 (en rojo, Cuadro 4.1). En oposición a lo comentado previamente, la línea de menor ACG ($P < 0,001$) para PG_E fue LP611. Esta línea tuvo valores negativos de ACG para MVG, DLLG y DLLE. En concordancia con lo observado para estos últimos dos atributos, LP611 también expresó los valores más altos de ACG para TDG y CHMF como promedio de ambas condiciones de N.

Las diferencias entre las ACGs de las líneas parentales (EE, en Cuadro 4.1) fueron mayores en N1 para la mayoría de los rasgos, excepto para el MCAG. La magnitud del aumento en el EE de las ACGs al pasar de N0 a N1 fue elevada (>10%) para PG_E (45%), MVG (34,7%), TCG (25%), DFL (27,8%) y TDG (33,3%). Respecto de las

correlaciones entre el valor de ACG de las líneas parentales y su valor fenotípico *per se* ($r_{ACG_{VF}}$), se destacaron ($P < 0,001$) las correspondientes a TCG (0,72), MCAG (0,70) y TDG (0,68), siendo intermedias ($P < 0,05$) las de MVG y DFL (0,46). Por su parte, el PG_E experimentó, en promedio, la menor $r_{ACG_{VF}}$. Existió una variación notable en los valores de $r_{ACG_{VF}}$ entre condiciones de N, observándose en N1 una disminución marcada para MVG pero un incremento importante para DLLG, DFL, DLLE, TDG y CHMF (Cuadro 4.1).

Cuadro 4.1. Aptitud combinatoria general (ACG) de las líneas parentales para peso de grano y determinantes fisiológicos, y correlación entre la ACG y el valor fenotípico de las líneas (r_{ACG_VF}) para cada combinación Atributo \times N (n = 12). Los valores positivo y negativo más altos de ACG para cada combinación Atributo \times N se encuentran en color **verde** y **rojo**, respectivamente.

Atributo	N	B100	LP2	LP561	LP611	LP662	ZN6	EE ^a	r_{ACG_VF}
PG_E^b (mg grano ⁻¹)	N0	-1,6	9,3***^c	2,72*	-8,7***	1,9	-3,6	2,2	0,27
	N1	-0,5	12***	1,0	-11***	2,6	-2,3	3,2	-0,06
MVG (μ l grano ⁻¹)	N0	-1,3	0,4	5,1*	-4,4	13***	-13***	2,3	0,68**
	N1	-5,4	7,4*	2,4	-6,2*	9,1**	-7,2*	3,1	0,37
TCG (mg grano ⁻¹ °Cd ⁻¹)	N0	-0,008*	0,010*	-0,009*	0,000	0,015***	-0,008	0,004	0,77**
	N1	-0,006	0,024***	-0,014**	-0,010*	0,004	0,003	0,005	0,68**
DLLG (°Cd)	N0	4,4	-1,7	18*	-16	-2,4	-3,1	8,2	0,18
	N1	4,2	-22**	21**	-7,6	17*	-13	8,3	0,55*
DFL (°Cd)	N0	-9,4*	-4,5	-11**	11**	30***	-16***	3,6	0,32
	N1	-16***	0,49	-8,5	4,5	20***	-0,3	4,6	0,59*
DLLE (°Cd)	N0	14	2,7	30**	-27*	-33**	13	11	0,06
	N1	20	-21*	30**	-12	-3,6	-13	11	0,48
MCAG (mg grano ⁻¹)	N0	1,8	-5,0**	-3,5*	2,8	11***	-7,4***	1,6	0,70**
	N1	7,2***	4,4**	-10***	1,9	5,2***	-8,3***	1,5	0,72**
TDG (g kg ⁻¹ grano ⁻¹ °Cd ⁻¹)	N0	0,008	0,001	-0,038***	0,016***	0,020***	-0,006	0,003	0,48
	N1	0,005	0,022***	-0,044***	0,016***	0,006	-0,005	0,004	0,78**
CHMF (%)	N0	-0,54	-0,77*	-0,17	0,95*	1,2**	-0,7	0,37	0,11
	N1	0,016	-0,63	-0,20	0,98*	0,32	-0,48	0,38	0,39

^aEE: error estándar de la diferencia entre dos ACGs.

^bCHMF: concentración de humedad a madurez fisiológica; DFL: duración de fase *lag*; DLLE: duración del llenado efectivo del grano; DLLG: duración total del llenado de grano; MCAG: máximo contenido de agua del grano; MVG: máximo volumen del grano; PG_E: peso de grano estimado; N0: sin fertilizar; N1: fertilizado con 200 kg N ha⁻¹; TCG: tasa de crecimiento del grano; TDG: tasa de desecación del grano.

^c*, **, *** representa valores *P* significativos al 0,05; 0,01; y 0,001, respectivamente.

A partir del análisis de las ACGs de las líneas parentales para los atributos de crecimiento de la planta, relación fuente-destino y componentes del RG (PG_M y NGP), se observó en general que los genotipos con altos valores en $N1$ también se destacaron en $N0$ (Cuadro 4.2). Asimismo, las correlaciones de los valores de ACG entre condiciones de N para la mayoría de los atributos fueron altas ($r = 0,60 - 0,94$; $P < 0,01$), excepto para el CP_{PLLE} ($r = -0,19$; $P > 0,05$). La línea LP561 fue la de mayor ACG para PG_M y para los atributos que se definen en el llenado efectivo, i.e. CP_{PLLE} y $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$ (sobre todo en $N0$); sin embargo, expresó el menor valor ($P < 0,001$) para el NGP (en rojo, Cuadro 4.2). Por el contrario, B100 obtuvo los valores más altos ($P < 0,001$) de ACG para el NGP , así como también para la TCP_{PC} (sobre todo en $N0$); pero estuvo entre las de menor ACG ($P < 0,01$) para PG_M , al igual que para ambas relaciones fuente-destino (sobre todo en $N0$, Cuadro 4.2). Por su parte, LP611 fue la peor ($P < 0,01$) en términos del comportamiento de su progenie para TCP_{PC} y PG_M (en rojo, Cuadro 4.2), y estuvo entre las peores para NGP , $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$ y CP_{PLLE} . Resulta llamativo el comportamiento de LP2 ya que, a pesar de ser la de mayor ACG para PG_E , no se destacó para el PG_M pero sí lo hizo para el NGP . Además, esta línea expresó valores de ACG de signo contrario entre niveles de N (positivos en $N1$ y negativos en $N0$) para el CP_{PLLE} , $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$ y PG_M (Cuadro 4.2). En concordancia con esto último, se encontró que el CP_{PLLE} tuvo valores de ACG de signo contrario entre condiciones de N no sólo para LP2, sino también para otras tres líneas parentales (B100, LP611, LP662).

En la mayoría de los atributos, las diferencias entre las ACGs de las líneas parentales (EE, en Cuadro 4.2) fueron mayores en $N1$, con un incremento en el EE de más del 80% para la TCP_{PC} , y de alrededor del 50% para CP_{PLLE} y PG_M . Esta tendencia, que también se detectó previamente para los determinantes fisiológicos del PG_E (Cuadro 4.1), tuvo como única excepción al NGP . Respecto de las correlaciones entre la ACG de las líneas parentales y su valor fenotípico *per se*, se destaca la observada para el NGP ($r = 0,76$; $P < 0,01$) en ambos niveles de N (Cuadro 4.2). Estas correlaciones, sin embargo, fueron notablemente más altas en $N0$ que en $N1$ para todos los demás atributos, aunque significativas en bajo N sólo para $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$, CP_{PLLE} y $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$. Resulta llamativo lo observado para el CP_{PLLE} en sus valores de $r_{ACG_{VF}}$ entre condiciones de N , los cuales fueron similares en sus magnitudes pero contrarios en su signo (Cuadro 4.2).

Cuadro 4.2. Aptitud combinatoria general (ACG) de las líneas parentales, y correlación entre la ACG y el valor fenotípico de las líneas (r_{ACG_VF}) para cada combinación Atributo \times N ($n = 12$) para atributos de crecimiento de la planta, relación fuente-destino y componentes numéricos del rendimiento. Los valores positivo y negativo más altos de ACG para cada combinación Atributo \times N se encuentran en color **verde** y **rojo**, respectivamente.

Atributo	N	B100	LP2	LP561	LP611	LP662	ZN6	EE ^a	r_{ACG_VF}
TCP_{PC}^b (mg pl ⁻¹ °Cd ⁻¹)	N0	17***^c	4,2	-14**	-21***	-0,4	13**	4,5	0,40
	N1	13	6,3	-9,2	-32***	-6,0	27**	8,2	0,10
TCP_{PC} grano⁻¹ (mg °Cd ⁻¹ grano ⁻¹)	N0	-0,022	-0,037*	0,010	0,000	0,025	0,023	0,015	0,52*
	N1	-0,043**	-0,021	0,022	-0,047**	0,025	0,064	0,015	0,02
CP_{PLLE} (g pl ⁻¹)	N0	4,0*	-2,5	4,4*	-5,2*	0,8	-1,5	2,0	0,52*
	N1	-2,2	8,2**	3,5	1,8	-5,8	-5,5	3,1	-0,40
CP_{PLLE} grano⁻¹ (mg grano ⁻¹)	N0	-13**	-23***	30***	1,7	5,2	-1,6	4,6	0,73**
	N1	-33***	2,6	23***	8,5	4,0	-5,1	5,2	0,30
NGP (pl ⁻¹)	N0	49***	22*	-35***	-26*	-8,7	-2,1	10	0,75**
	N1	60***	24***	-36***	-16**	-27***	-5,5	6,1	0,78**
PG_M (mg grano ⁻¹)	N0	-6,3**	-5,8**	14***	-8,6***	4,5*	2,0	2,2	0,47
	N1	-8,8**	4,3	6,9*	-10**	3,9	4,3	3,2	0,22

^aEE: error estándar de la diferencia entre dos ACGs.

^bCP_{PLLE}: crecimiento por planta durante el período de llenado efectivo; CP_{PLLE} grano⁻¹: CP_{PLLE} por grano; N0: sin fertilizar; N1: fertilizado con 200 kg N ha⁻¹; NGP: número de granos por planta; PG_M: peso medio de grano; TCP_{PC}: tasa de crecimiento por planta durante el período crítico para la fijación de granos; TCP_{PC} grano⁻¹: TCP_{PC} por grano.

^c*, **, *** representa valores *P* significativos al 0,05; 0,01; y 0,001, respectivamente.

4.3.2. Asociaciones de los efectos de aptitud combinatoria: peso de grano y sus determinantes fisiológicos

Las asociaciones entre las ACGs del PG_E y sus determinantes fisiológicos, así como la proporción de la variabilidad total explicada por los primeros dos componentes principales (CP1 y CP2), variaron entre condiciones de N (Fig. 4.1). Así, dichos componentes principales explicaron, en conjunto, el 78 y 70% de la variación en N0 (Fig. 4.1A) y N1 (Fig. 4.1B), respectivamente. Las ACGs para DLLE, MVG y DFL fueron las que más explicaron (14%, 14%, y 12%, respectivamente) la variabilidad total de los primeros dos componentes principales en N0; mientras que las ACGs para PG_E (15%), TCG (14%), y DLLE y MVG (13% cada una) se destacaron en N1. La ACG para PG_E se asoció (i) en N0, positiva y fuertemente con el MVG, y en menor medida con DLLG, DLLE, TCG y MCAG, y negativamente con la TDG; y (ii) en N1, positiva y fuertemente con el MVG y la TCG, y en menor medida con el MCAG y la DFL. Lo observado en N1 se condice con la alta correlación detectada entre las ACGs para PG_E y para MVG y TCG, las cuales fueron superiores en dicha condición de N (Cuadro 4.3). Además, en N1 el PG_E no se asoció con la DLLG (ángulo entre vectores igual a 90° , Fig. 4.1B), y lo hizo débil y en forma negativa con la DLLE y la CHMF (ángulo entre vectores mayor a 90° , Fig. 4.1B).

En el caso de los dos componentes fisiológicos más importantes del PG, i.e. TCG y DLLG, sus ACGs se asociaron negativamente entre sí en ambos niveles de N (ángulo mayor a 90° , Fig. 4.1). Sin embargo, mientras las ACGs de ambos atributos participaron positivamente de la determinación de la ACG del PG_E en N0 (Fig. 4.1A), sólo la ACG de la TCG conservó esta tendencia en N1 (Fig. 4.1B). Asimismo, la ACG de la DLLG siempre se asoció fuerte y positivamente con la correspondiente a la DLLE, y ambas se correlacionaron de manera negativa con las ACGs de casi todos demás los atributos (excepto con el PG_E y el MVG en N0). Por su parte, en ambos niveles de N se verificó que las ACGs de los rasgos TCG, DFL, MCAG y MVG se asociaron positivamente entre sí; lo mismo se observó entre las ACGs de la TDG y la CHMF (Fig. 4.1).

Las líneas endocriadas variaron marcadamente en sus patrones de respuesta, lo que se evidenció a partir del arreglo diferencial entre genotipos y atributos en ambas condiciones de N (Fig. 4.1). Entre las líneas que más contribuyeron a explicar la variabilidad de las ACGs de los atributos evaluados, se destaca la importancia de LP662 y LP561 en N0 (ca. 55% de la variabilidad total), y de LP2 y LP561 en N1 (ca. 50% del total). Por el contrario, B100 expresó un efecto reducido, ubicándose cercana al origen en ambos niveles de N. Las asociaciones de las líneas con la ACG para PG_E fueron (i) positivas (proyección perpendicular en sentido positivo del vector) en el caso de LP2 y LP662 en ambos niveles de N, y de LP561 en N0; (ii) fuertemente negativas (proyección perpendicular negativa) para LP611 en ambos niveles de N, y para ZN6 en N0; y (iii) casi nulas en el caso de B100. Dichas respuestas coinciden con los valores comentados de ACG para PG_E de cada una de las líneas (ver Cuadro 4.1).

En cuanto a las asociaciones de las líneas con las ACGs de los atributos secundarios del PG_E , LP662 se asoció positivamente con la ACG de MVG, TCG, MCAG y DFL en ambas condiciones de N, aunque de manera más robusta en N0; similar comportamiento se observó para LP2, pero sólo en N1 (Fig. 4.1). Esto se condice con los valores altos de ACG expresados por las líneas LP2 y LP662 en los atributos mencionados (Cuadro 4.1). Resulta relevante lo observado para el genotipo LP561, el cual se asoció positivamente con la ACG para DLLG y DLLE (máximo valor de ACG para dichos atributos, Cuadro 4.1), y negativamente con la ACG para CHMF y TDG. A diferencia de lo observado para LP561, la línea parental LP611 expresó el patrón inverso (Fig. 4.1).

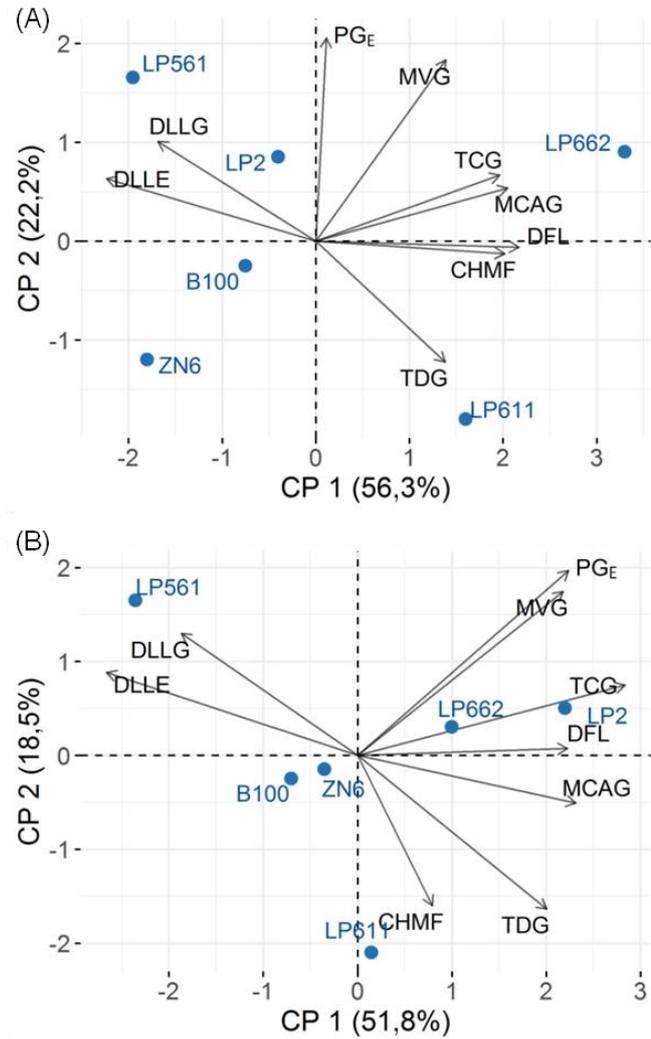


Figura 4.1. *Biplots* de los dos primeros componentes principales (CP 1 y CP 2) para aptitud combinatoria general (ACG) del PG_E y sus determinantes fisiológicos, evaluados en seis líneas endocriadas bajo (A) N0, y (B) N1. Los resultados corresponden a dos años experimentales (2013-14 y 2014-15). Los atributos están representados por vectores y los genotipos por puntos. CHMF: concentración de humedad a madurez fisiológica; DFL: duración de fase *lag*; DLLE: duración del llenado efectivo del grano; DLLG: duración total del llenado de grano; MCAG: máximo contenido de agua del grano; MVG: máximo volumen del grano; TCG: tasa de crecimiento del grano; TDG: tasa de desecación del grano.

Cuadro 4.3. Correlación de *Pearson* para las aptitudes combinatorias general (r_{ACG}) y específica (r_{ACE}) del PG_E con las correspondientes a sus atributos secundarios. Los datos corresponden a seis líneas endocriadas evaluadas en sus 30 híbridos simples derivados, a través de todos los ambientes (Prom.; $n=24$ para ACG, $n=60$ para ACE), y para cada condición de N (N0: sin fertilizar, N1: fertilizado con 200 kg N ha^{-1} ; $n=12$ para ACG, $n=30$ para ACE).

Atributo	r_{ACG}			r_{ACE}		
	Prom.	N0	N1	Prom.	N0	N1
MVG ^a	0,77*** ^b	0,59*	0,86***	0,76***	0,57***	0,84***
TCG	0,73***	0,49*	0,87***	0,57***	0,46*	0,62***
DLLG	-0,09	0,14	-0,23	0,78***	0,72***	0,84***
DFL	0,20	-0,09	0,43	0,14	-0,24	0,26
DLLE	-0,17	0,14	-0,42	0,63***	0,69***	0,60***
MCAG	0,35*	0,11	0,49*	0,62***	0,38*	0,73***
TDG	0,03	-0,24	0,19	0,44***	0,38*	0,47**
CHMF	-0,21	-0,22	-0,24	-0,61***	-0,68***	-0,57**

^aPara la descripción detallada de los atributos referirse a la Cuadro 4.1.

^b*, **, *** representa valores *P* significativos al 0,05; 0,01; y 0,001, respectivamente.

Cuando se realizó el análisis de componentes principales para las ACEs de los atributos secundarios del PG_E , se comprobó que CP1 y CP2 explicaron en conjunto una mayor proporción de la variabilidad total en N1 (87%) que en N0 (74%); i.e. un patrón opuesto al observado previamente en el análisis de ordenamiento para las ACGs de dichos atributos. Las ACEs de los atributos PG_E , DLLG, DLLE y TCG fueron las que más contribuyeron a explicar la variabilidad total de CP1 y CP2, alcanzando en conjunto el 58 y 50% en N0 y N1, respectivamente. Por el contrario, las ACEs de TDG y MCAG fueron las que menos contribuyeron a explicar la variabilidad del sistema, lo que se evidenció en la menor longitud de sus vectores (Figs. 4.2A y B).

En general, la condición de N no modificó el patrón de asociación entre la ACE para PG_E y la de sus componentes fisiológicos (Fig. 4.2). En este sentido, la ACE del PG_E tuvo una asociación (i) negativa con la ACE de la CHMF (ángulo entre vectores mayor a 90°); (ii) nula con la ACE de la DFL (ángulo recto); y (iii) positiva (ángulo menor a 90°) con las ACEs del resto de los atributos (Fig. 4.2). Respecto de las asociaciones positivas con la ACE para PG_E , se destacaron en N0 aquellas con las ACEs para MVG, TDG, MCAG y DLLG; mientras que en N1, sobresalieron las relaciones con las ACEs para MVG, MCAG y DLLG (Fig. 4.2). El grado de correlación de los efectos de ACE para PG_E y ACE para sus atributos secundarios tendió a ser mayor en N1 (Cuadro 4.3). El mecanismo de asociación genética entre el PG_E y la DLLG merece ser destacado, ya que de expresar una correlación casi nula ($r = -0,09$) entre sus efectos de ACG, ambos atributos pasaron a estar fuertemente correlacionados entre sí en sus efectos de ACE ($r = 0,78$; Fig. 4.2). Por su parte, las ACEs de los dos determinantes fisiológicos más importantes del peso de grano (i.e. TCG y DLLG), no se asociaron entre sí (N1, Fig. 4.2B) o lo hicieron débilmente y de manera negativa (N0, Fig. 4.2A). Al igual que lo observado para las ACGs y más allá del nivel de N analizado, las asociaciones vía ACE fueron positivas entre sí para (i) TCG, MVG, MCAG, TDG y DFL; y (ii) DLLG y DLLE. Para el caso de DLLG y DLLE, sus ACEs se asociaron en forma negativa con la ACE para CHMF (ángulo entre vectores cercano a 180° , Fig. 4.2).

Los híbridos variaron sustancialmente en sus patrones de respuesta a partir de sus ACEs, lo que se evidenció en el arreglo espacial diferencial entre genotipos y atributos

en ambas condiciones de N (Figs. 4.2). Del total de la variabilidad explorada por los CP1 y CP2, alrededor del 60% fue explicada sólo por cuatro genotipos, tanto en N0 (LP2×LP662, LP561×LP662, LP2×LP561, LP2×ZN6) como en N1 (LP611×ZN6, LP611×LP662, LP2×ZN6, LP662×ZN6). Sólo seis de los 15 híbridos se asociaron positivamente con la ACE para PG_E en N1 (genotipos en naranja, Fig. 4.2B); mientras que en N0 la cantidad de genotipos que expresó dicho patrón ascendió a nueve (Fig. 4.2A). Respecto de las asociaciones particulares entre los genotipos y la ACE para PG_E , el híbrido LP2×LP662 tuvo la relación positiva más fuerte en N0, y una de las más importantes en N1 (Figs. 4.2A y B), condición de N en la que LP611×ZN6 fue el que tuvo la asociación positiva más robusta con el PG_E (Fig. 4.2B). Cabe destacar que, como se mencionó anteriormente, los parentales del híbrido LP2×LP662 también expresaron altos valores de ACG para PG_E ; mientras que el híbrido LP611×ZN6 proviene de parentales con la menor ACG para PG_E (Cuadro 4.1). Asimismo, LP2×LP662 se asoció fuertemente con las ACEs para TCG, MVG, MCAG, DFL y TDG (sobre todo en N0), mientras que LP611×ZN6 se asoció con las ACEs correspondientes a la DLLG y DLLE (principalmente en N1). Por el contrario, LP2×ZN6 y LP611×LP662 se asociaron fuertemente con las ACEs para PG_E y CHMF de manera negativa y positiva, respectivamente (Figs. 4.2A y B). Paralelamente, se destaca la asociación positiva y robusta de LP2×LP561 con la DLLG y DLLE en ambas condiciones de N.

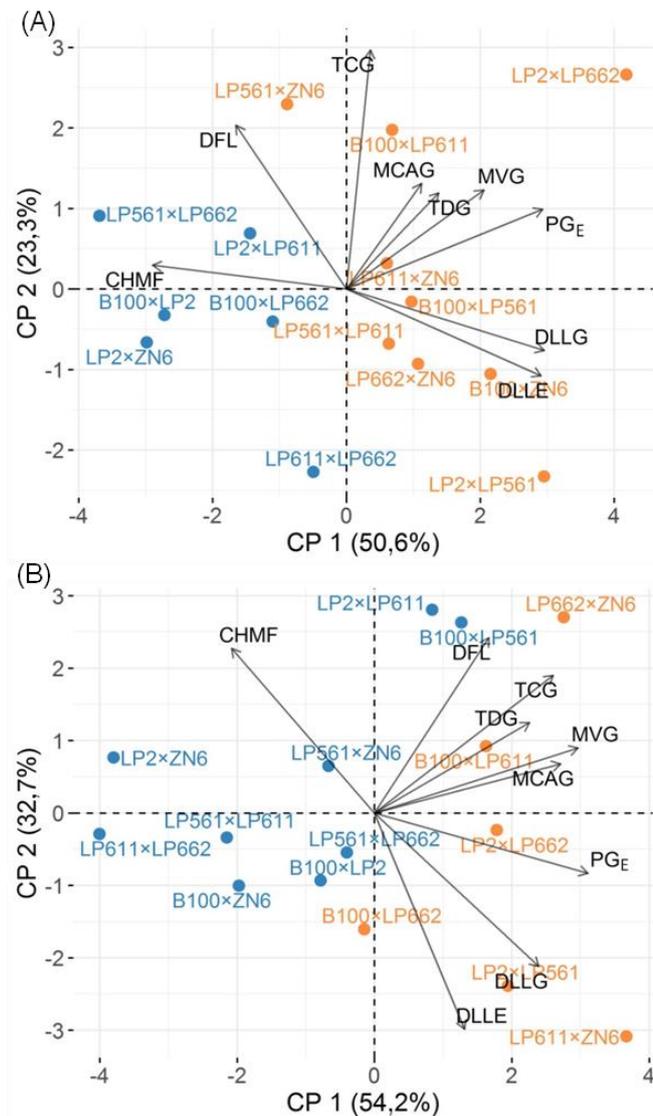


Figura 4.2. *Biplots* de los dos primeros componentes principales (CP 1 y CP 2) para aptitud combinatoria específica (ACE) del PG_E y sus determinantes fisiológicos, evaluados en 15 híbridos y bajo (A) N0, y (B) N1. Los resultados corresponden a dos años experimentales (2013-14 y 2014-15). Los atributos están representados por vectores y los genotipos por puntos. Genotipos naranjas y azules corresponden a asociaciones con la ACE del PG_E positivas y negativas, respectivamente. Para la descripción de los atributos referirse a la Fig. 4.1.

4.3.3. Asociaciones de los efectos de aptitud combinatoria: crecimiento de la planta, relación fuente-destino y componentes del rendimiento

El análisis de componentes principales para las ACGs de los atributos de crecimiento por planta y por grano, y componentes del rendimiento explicó, a través de sus primeros dos componentes (CP1 y CP2), el 80 y 75% de la variabilidad total en N0 y N1, respectivamente (Fig. 4.3). Las ACGs que más contribuyeron a explicar la variabilidad de ambos CPs fueron las correspondientes al NGP y el PG_M (40% en conjunto) en N0, y las de los atributos de relación fuente-destino (42%) en N1. Por el contrario, la ACG del $CP_{P_{LLE}}$ fue notoriamente la que menos contribuyó a explicar la variabilidad del sistema (menos del 5%) en N1, lo que se evidenció en la longitud reducida de su vector (Fig. 4.3B).

Más allá de la condición de N, la ACG para PG_M se asoció negativamente con la del NGP y positivamente con la de ambas relaciones fuente-destino (Fig. 4.3); sin embargo, en N1 la correlación fue más estrecha con la ACG de la TCP_{PC} grano⁻¹ ($r = 0,70$; $P < 0,01$). Además, la ACG del PG_M no se asoció con la de TCP_{PC} en N0, ni con la del CP_{PLLE} en N1 (Fig. 4.3). Por su parte, la ACG para NGP se correlacionó (i) positivamente con la ACG para TCP_{PC} ($r = 0,57$; $P < 0,01$), aunque de manera más estrecha en N0; y (ii) negativa y fuertemente con las ACGs de ambas relaciones fuente-destino (Figs. 4.3A y B; Cuadro 4.4). Ambos componentes del rendimiento se correlacionaron negativamente entre sí en sus efectos de ACG, especialmente en N0 (Cuadro 4.4).

En relación a las asociaciones entre las ACGs de los rasgos de crecimiento y relación fuente-destino, se pudo observar que una mayor ACG para TCP_{PC} se asoció positivamente con la correspondiente a un mayor crecimiento durante la fase subsiguiente (i.e. ACG del CP_{PLLE}) en N0, pero lo inverso se observó en N1 (asociación negativa). Asimismo, la ACG para TCP_{PC} grano⁻¹ se correlacionó fuertemente con la del CP_{PLLE} grano⁻¹ en N0 (ambos vectores superpuestos), pero dicha asociación fue casi nula en N1 (Figs. 4.3A y B). Es curioso lo observado para las asociaciones entre las ACGs de crecimiento por planta y crecimiento por grano dentro de cada sub-fase (período crítico y llenado efectivo), las cuales fueron positivas en N1 (ángulo agudo entre TCP_{PC} y TCP_{PC} grano⁻¹, y entre CP_{PLLE} y CP_{PLLE} grano⁻¹), pero nulas o incluso negativas en N0.

Las líneas que se destacaron en su nivel de contribución para explicar la variabilidad observada fueron B100 y LP561 (50% del total) en N0, y B100 y LP611 (60% del total) en N1. Por el contrario, ZN6 y LP2 fueron las que menos explicaron (cercasas al origen) la variabilidad total explorada en N0 y N1, respectivamente (Fig. 4.3). Los genotipos B100 y LP561 expresaron patrones opuestos en ambas condiciones de N, ya que B100 se asoció de manera positiva con las ACGs para NGP y TCP_{PC} , y en forma negativa con las ACGs para PG_M y relaciones fuente-destino, mientras que lo inverso se observó para LP561 (Figs. 4.3). Esto concuerda con los valores de ACG registrados en ambos genotipos, los cuales se detallaron en la sección 4.3.1 (Cuadro 4.2). Adicionalmente, la línea LP662 presentó un comportamiento similar a LP561, pero de menor magnitud para las ACGs de la mayoría de los atributos (ubicación más cercana al origen). El mismo patrón de respuesta se detectó en el caso de LP2 y B100, pero sólo en N0 (Fig. 4.3A). Resulta relevante lo observado para LP611, ya que se asoció negativamente con casi todos los atributos evaluados en sus valores de ACG (excepto con el CP_{PLLE} y CP_{PLLE} grano⁻¹ en N1).

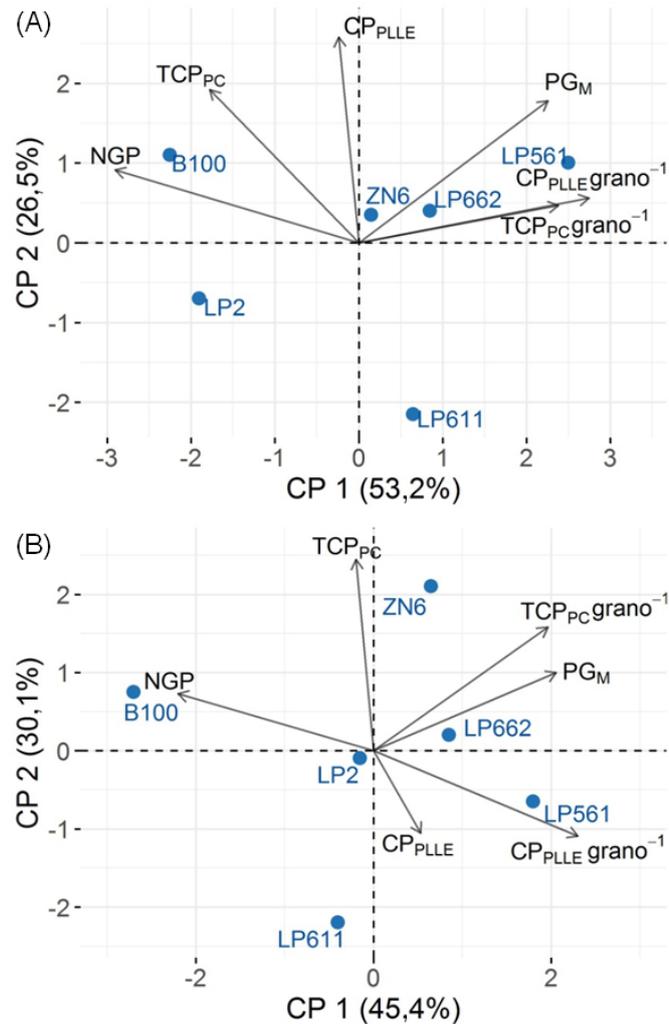


Figura 4.3. *Biplots* de los dos primeros componentes principales (CP 1 y CP 2) para aptitud combinatoria general (ACG) de los atributos de crecimiento por planta, relación fuente-destino del llenado, y componentes del rendimiento, evaluados en seis líneas endocriadas bajo (A) N0, y (B) N1. Los resultados corresponden a dos años experimentales (2013-14 y 2014-15). Los atributos están representados por vectores y los genotipos por puntos. CP_{PLLE} : crecimiento por planta durante el período de llenado efectivo; $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$: CP_{PLLE} por grano; NGP: número de granos por planta; PG_M : peso medio de grano; TCP_{PC} : tasa de crecimiento por planta durante el período crítico para la fijación de granos; $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$: TCP_{PC} por grano.

Cuadro 4.4. Correlación de Pearson para las aptitudes combinatorias general (r_{ACG}) y específica (r_{ACE}) del NGP (valor en la celda superior) y del PG_M (valor en la inferior) con las correspondientes a atributos del crecimiento por planta y relación fuente-destino durante el llenado de los granos. Los datos corresponden a seis líneas endocriadas evaluadas en sus 30 híbridos simples derivados. Prom. corresponde al valor a lo través de todos los ambientes (Prom.; $n=24$ para ACG, $n=60$ para ACE), y para cada condición de N (N0: sin fertilizar, N1: fertilizado con 200 kg N ha^{-1} ; $n=12$ para ACG, $n=30$ para ACE).

Atributos		r_{ACG}			r_{ACE}		
		Prom.	N0	N1	Prom.	N0	N1
TCP _{PC} ^a	NGP	0,57**b	0,73***	0,46*	0,46***	0,31	0,54**
	PG_M	0,20	0,01	0,34	0,16	0,46*	0,12
TCP _{PC} grano ⁻¹	NGP	-0,60***	-0,68**	-0,55*	-0,62***	-0,83***	-0,42*
	PG_M	0,69***	0,69**	0,70**	0,12	0,22	0,07
CP _{PLLE}	NGP	0,19	0,33	0,12	0,63***	0,85***	0,54**
	PG_M	0,27	0,32	0,25	0,56***	0,14	0,70***
CP _{PLLE} grano ⁻¹	NGP	-0,79***	-0,79***	-0,80***	0,02	0,18	-0,05
	PG_M	0,58**	0,66**	0,52*	0,69***	0,47**	0,76***
PG_M	NGP	-0,47*	-0,54*	-0,41	-0,05	-0,25	0,04

^aPara la descripción detallada de los atributos referirse a la Cuadro 4.2.

^b*, **, *** representa valores P significativos al 0,05; 0,01; y 0,001, respectivamente.

A partir del análisis de ordenamiento para las ACEs de los atributos, los CP1 y CP2 explicaron en conjunto el 76% (N0) y 81% (N1) de la variabilidad total. La ACE del CP_{PLLE} fue la que más contribuyó a explicar la variabilidad entre ambas condiciones de N, mientras que las correspondientes a la TCP_{PC} grano⁻¹ se destacó en N0 y la TCP_{PC} en N1 (Figs. 4.4A y B). El PG_M se asoció positivamente en su valor de ACE con el del CP_{PLLE} grano⁻¹, independientemente de la condición de N ($r = 0,69$; $P < 0,001$; Fig. 4.4), y con los atributos de crecimiento por planta, aunque con diferencias entre los niveles de N. Respecto de esto último, la ACE del PG_M se asoció en forma más robusta con la de la TCP_{PC} en N0, y con la del CP_{PLLE} en N1 (Figs. 4.4A y B; Cuadro 4.4). Por su parte, la ACE para NGP se asoció fuertemente y en sentido opuesto con la del CP_{PLLE} ($r = 0,63$) y de la TCP_{PC} grano⁻¹ ($r = -0,62$) en ambos niveles de N, aunque de manera más fuerte en N0 (Fig. 4.4; Cuadro 4.4). Asimismo, los efectos de ACE del NGP tuvieron una relación (i) positiva (N1) o nula (N0) con los de la ACE del PG_M , y (ii) siempre positiva con los de la ACE de la TCP_{PC}, aunque significativa sólo en N1 (Cuadro 4.4). Dentro de cada sub-fase analizada, una alta ACE para crecimiento por planta se asoció con una alta ACE para oferta de asimilados por grano (i.e. correlación positiva de ACEs de TCP_{PC} – TCP_{PC} grano⁻¹ y de CP_{PLLE} – CP_{PLLE} grano⁻¹).

Los híbridos que se destacaron en su nivel de contribución porcentual para explicar la variabilidad observada fueron B100×LP2 (22%) y LP561×LP611 (15%) en N0, y LP611×LP662 en N1, el cual explicó por sí solo el 22% de la variabilidad total. Respecto de las asociaciones particulares entre los genotipos con la ACE para PG_M , seis híbridos de un total de 15 genotipos se asociaron positivamente con dicho atributo en N0 (en naranja, Fig. 4.4A); mientras que en N1 la cantidad de genotipos que expresó dicho patrón ascendió a nueve (señalados en color naranja, Fig. 4.4B). Sólo cuatro híbridos expresaron valores positivos de ACE para PG_M de manera conjunta en ambas condiciones de N (B100×LP561, B100×LP662, LP2×LP561, LP611×ZN6). Asimismo,

dos de estos cuatro híbridos (B100×LP561 y LP611×ZN6) también expresaron altos valores relativos de ACE para NGP (Figs. 4.4A y B). Por el contrario, B100×LP2 y LP611×LP662 lograron los menores valores relativos de ACE para PG_M en N0 y N1, respectivamente (Figs. 4.4A y B). Estos últimos híbridos, además, fueron los de menor ACE para NGP. Cabe resaltar lo observado para el híbrido LP561×ZN6, el cual se asoció en forma negativa con la mayoría de los atributos en ambos niveles de N.

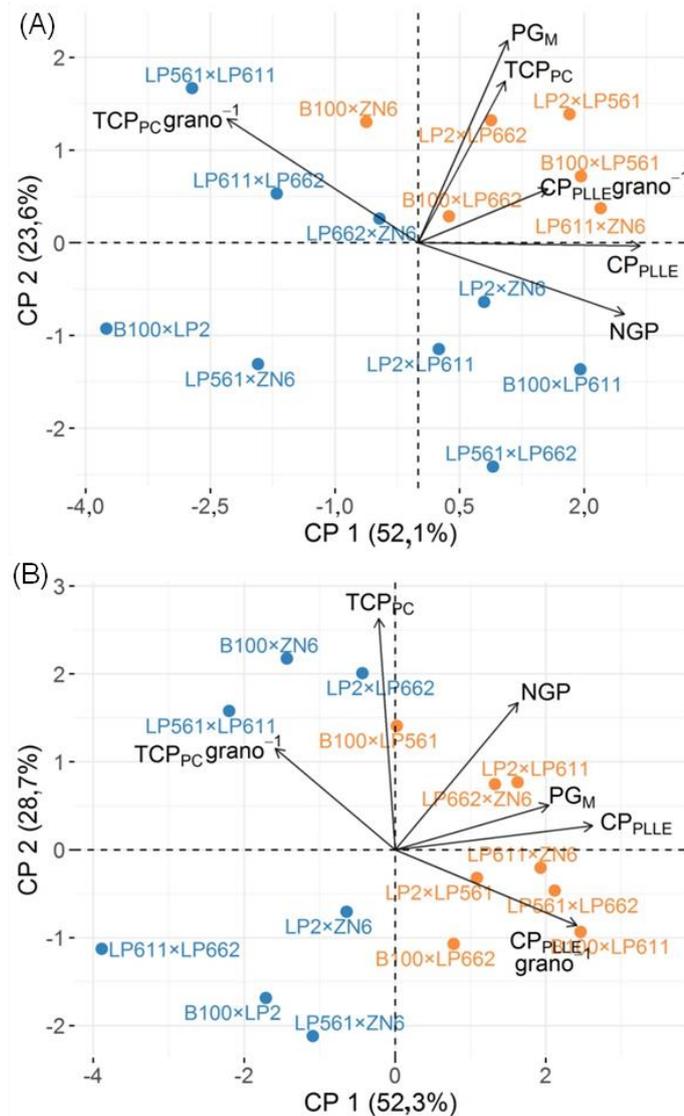


Figura 4.4. Biplots de los dos primeros componentes principales (CP 1 y CP 2) para aptitud combinatoria específica (ACE) de los atributos de crecimiento por planta, relación fuente-destino durante el llenado, y componentes del rendimiento, evaluados en 15 híbridos bajo (A) N0, y (B) N1. Los resultados corresponden a dos años experimentales (2013-14 y 2014-15). Los atributos están representados por vectores y los genotipos por puntos. Genotipos naranjas y azules corresponden a asociaciones con la ACE del PG_M positivas y negativas, respectivamente. Para la descripción de los atributos referirse a la Fig. 4.2.

4.3.4. Asociaciones genéticas

Las asociaciones genéticas entre los atributos, producto de considerar los efectos conjuntos de ACG y ACE a través de todos los ambientes estudiados, se evaluaron mediante análisis de senderos, tanto para el PG_E como para el PG_M . En el análisis para

el PG_E se hipotetizó acerca de la existencia de relaciones genéticas causales directas con sus dos determinantes principales (TCG y DLLE), e indirectas con dos grupos de atributos: (i) MCAG, MVG y DFL (todos vía efectos en la TCG); y (ii) CHMF y TDG (vía efectos en la DLLE).

La determinación genética del PG_E se correlacionó fuertemente y de manera positiva con la TCG ($r = 0,64$; $P < 0,001$) y el MVG ($r = 0,75$; $P < 0,001$) en sus valores genéticos (Cuadro 4.5), pero por mecanismos distintos. Se pudo establecer (i) un efecto directo preponderante de la TCG en su asociación con el PG_E ; y (ii) un efecto indirecto importante y positivo de la TCG a través de los efectos del MVG sobre el PG_E (en verde, Cuadro 4.5). La TCG también ejerció un importante efecto indirecto positivo (Cuadro 4.5) sobre el PG_E vía la DFL, MCAG y TDG, y negativo vía DLLE, y coincide con los valores altos de correlación entre la TCG y dichos atributos ($r \geq 0,45$; $P < 0,001$; Fig. 4.5). Esto sugiere que el efecto de los rasgos mencionados sobre el PG_E estaría mediado en gran parte por la acción de la TCG, principalmente en el caso del MVG, MCAG y TDG, cuyos efectos directos fueron muy bajos (Cuadro 4.5).

Respecto del impacto de la DLLE sobre el PG_E , se observó que tuvo un importante efecto directo sobre este último, pese a la baja correlación entre ambos atributos ($r = 0,20$; $P > 0,05$). Esta baja correlación se debió en gran medida al efecto indirecto negativo sobre el PG_E mediado por la TCG (Cuadro 4.5), lo que concuerda con la alta correlación negativa ($r \sim -0,60$) entre TCG y DLLE. Además, el PG_E se correlacionó ($P < 0,01$) positivamente con el MCAG y negativamente con la CHMF; aunque el efecto directo de ambos atributos sobre el PG_E no resultó importante. Así, en el caso del MCAG, se destacó el efecto indirecto y positivo a través de la TCG (en verde), y en el caso de la CHMF, el efecto negativo vía DLLE (en rojo, Cuadro 4.5). Esto último se condice con la correlación negativa entre ambos rasgos (CHMF y DLLE) en sus efectos genéticos ($r = -0,54$; $P < 0,001$).

Cuadro 4.5. Coeficientes de senderos directos (en negrita) e indirectos de los efectos genéticos correspondientes a los determinantes fisiológicos del peso de grano sobre los efectos genéticos del PG_E . PG_E (r) representa el coeficiente de correlación entre el PG_E y cada uno de sus componentes fisiológicos. Para los casos de correlación significativa, el efecto indirecto más alto en términos absolutos se destaca con color (en verde y en rojo para el valor positivo y negativo, respectivamente).

Variable	Efecto directo sobre PG_E	Efecto Indirecto sobre PG_E^a							PG_E (r)
		MVG	TCG	DFL	DLLE	MCAG	TDG	CHMF	
MVG	0,17	-	0,65	0,04	-0,12	0,03	0,00	-0,02	0,75 ^{***b}
TCG	0,93	0,12	-	-0,04	-0,45	0,03	-0,01	-0,02	0,64 ^{***}
DFL	0,07	0,09	0,58	-	-0,52	0,03	-0,01	-0,07	0,17
DLLE	0,77	-0,03	-0,54	-0,05	-	-0,02	0,01	0,08	0,23
MCAG	0,05	0,10	0,57	0,04	-0,26	-	-0,01	-0,05	0,44 ^{***}
TDG	-0,01	0,02	0,42	0,03	-0,29	0,03	-	-0,01	0,17
CHMF	-0,13	0,02	0,16	0,04	-0,52	0,02	0,00	-	-0,40 ^{**}

^aPara la descripción detallada de los atributos referirse a la Cuadro 4.1.

^b*, **, *** representa valores P significativos al 0,05; 0,01; y 0,001, respectivamente.

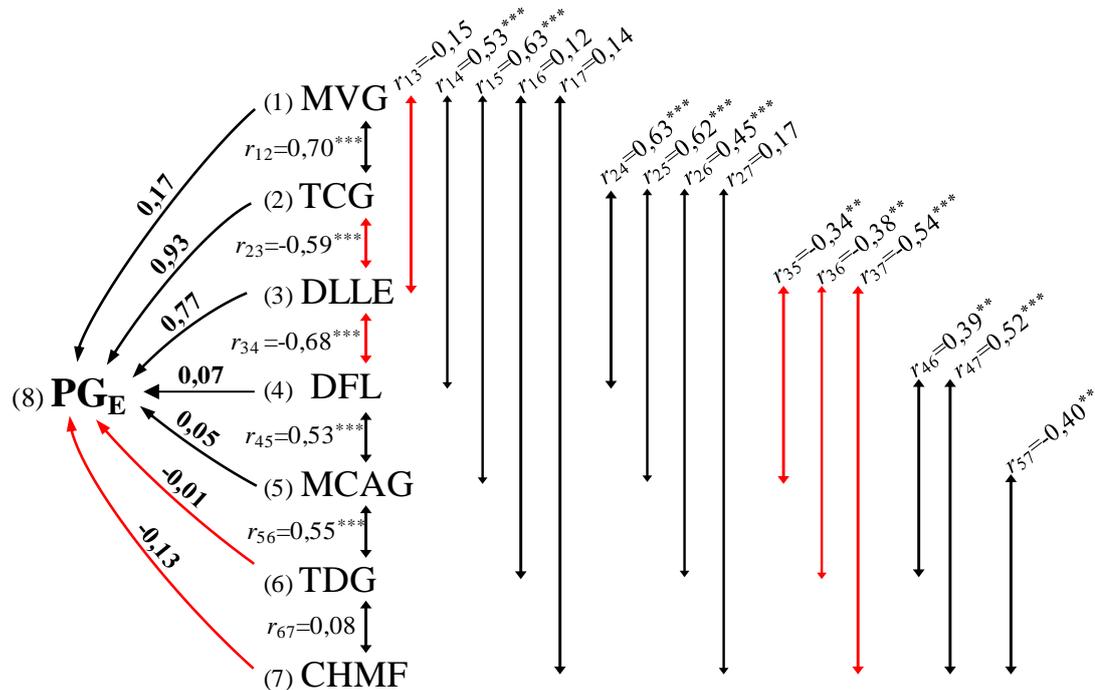


Figura 4.5. Diagrama de senderos mostrando relaciones entre los efectos genéticos del PGE y el de sus determinantes fisiológicos. Las flechas dobles representan asociaciones mutuas entre variables estimadas a partir del coeficiente de correlación (r) y las flechas simples representan influencias directas estimadas a partir de los coeficientes de sendero. Flechas de color negro y rojo representan asociaciones positivas y negativas, respectivamente. Los valores de correlación (r) entre cada variable componente y la variable respuesta se presentan en la Cuadro 4.5. Para la descripción de los atributos referirse a la Fig. 4.1. Valor- r significativo con una probabilidad de *0,05; **0,01 ó ***0,001 ($n=60$).

En el caso de las asociaciones genéticas con el PGM, se hipotetizó acerca de la existencia de relaciones genéticas causales directas con la oferta de asimilados por grano del período crítico (TCP_{PC} grano⁻¹) y del llenado (CP_{PLLE} grano⁻¹), e indirectas con la producción de biomasa (TCP_{PC} y CP_{PLLE}), cada una de ellas actuando vía sus correspondientes relaciones fuente-destino. Ambas relaciones fuente-destino se correlacionaron positivamente ($P < 0,001$) con el PGM, destacándose el efecto directo de la TCP_{PC} grano⁻¹, el cual resultó ser el más alto (Cuadro 4.6). En contraposición a lo hipotetizado, la incidencia directa del CP_{PLLE} grano⁻¹ sobre el PGM fue mucho menor, siendo importante el efecto indirecto vía CP_{PLLE} , atributo con el cual se correlacionó positivamente ($r = 0,51$; $P < 0,001$). Pese a que el CP_{PLLE} tuvo un efecto directo importante sobre el PGM, el efecto indirecto negativo vía TCP_{PC} grano⁻¹ determinó que su correlación con el PGM sea menor (Cuadro 4.6). El PGM y el NGP se correlacionaron entre sí de manera negativa (Fig. 4.6). A su vez, este último se asoció en sus efectos genéticos (i) de forma negativa y fuertemente ($r \sim -0,60$; $P < 0,001$) con ambas relaciones fuente-destino; y (ii) positivamente con el crecimiento por planta de ambos períodos (crítico y llenado efectivo) (Fig. 4.6).

Cuadro 4.6. Coeficientes de senderos directos (en negrita) e indirectos de las variables de crecimiento por planta y relación fuente-destino durante el período crítico y el llenado efectivo sobre el peso del grano medio (PG_M). $PG_M(r)$ representa el coeficiente de correlación entre el PG_M y los atributos evaluados. Para los casos de correlación significativa, el efecto indirecto más alto en términos absolutos se destaca con color (en verde y en rojo para el valor positivo y negativo, respectivamente).

Variable	Efecto directo sobre PG_M	Efecto indirecto sobre PG_M				$PG_M(r)$
		TCP_{PC}^a	$TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$	CP_{PLLE}	$CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$	
TCP_{PC}	0,05	-	0,18	0,00	-0,09	0,15
$TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$	0,66	0,01	-	-0,18	0,05	0,55***
CP_{PLLE}	0,49	0,00	-0,24	-	0,10	0,36**
$CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$	0,20	-0,02	0,18	0,25	-	0,61***

^aPara la descripción detallada de los atributos referirse a la Cuadro 4.2.

^b*, **, *** representa valores P significativos al 0,05; 0,01; y 0,001, respectivamente.

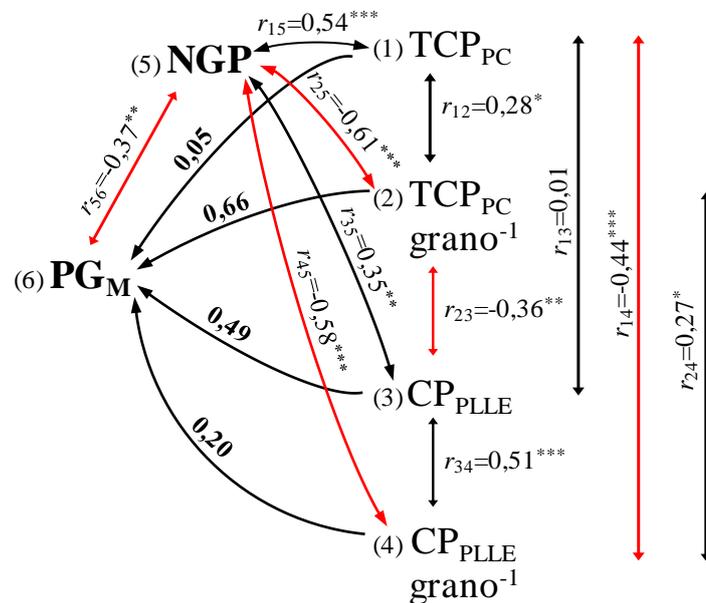


Figura 4.6. Diagrama de senderos mostrando relaciones entre los efectos genéticos del peso del grano medio (PG_M) y los correspondientes a las variables consideradas determinantes del mismo; i.e. tanto el NGP como el crecimiento por planta y la relación fuente-destino durante el período crítico y el llenado efectivo. Las flechas dobles representan asociaciones mutuas entre variables estimadas a partir del coeficiente de correlación (r) y las flechas simples representan influencias directas sobre PG_M estimadas a partir de los coeficientes de sendero. Flechas de color negro y rojo representan asociaciones positivas y negativas, respectivamente. Los valores de correlación (r) entre cada variable componente y la variable respuesta se presentan en el Cuadro 4.6. Para la descripción de los atributos referirse a la Fig. 4.2. Valor- r significativo con una probabilidad de *0,05; **0,01 ó ***0,001 ($n=60$).

4.4. Discusión

En el presente capítulo se analizaron los patrones de asociación genética entre los rasgos evaluados, con el fin de cuantificar la magnitud de las asociaciones, así como también las vías genéticas preponderantes por las cuales los atributos secundarios se relacionaron entre sí y con el atributo primario (PG_E y PG_M) objeto de estudio. Asimismo, se caracterizó a las líneas parentales mediante sus valores de ACG , y se determinó el grado de correlación entre dichos niveles de ACG y el valor fenotípico de

las líneas para cada condición de N. Es importante dejar en claro que las correlaciones genéticas obtenidas deben ser tomadas con cautela, ya que si bien el número de híbridos evaluado fue considerable, los mismos provienen de una muestra fija y relativamente pequeña de líneas endocriadas de diferente origen y *background* de selección, lo que podría conducir a estimaciones sesgadas en los efectos de ACG y/o ACE (Larièpe et al., 2017).

4.4.1. Correlación entre el comportamiento de las líneas y su aptitud combinatoria

Las líneas parentales se diferenciaron notablemente entre sí en sus valores de ACG para los atributos evaluados, lo que se atribuye en gran parte a la diversidad genética del germoplasma utilizado (flint, semiflint, dentado), como se mencionó en el capítulo anterior. Para cada atributo, las líneas que se destacaron en sus valores de ACG en N1 tendieron a sobresalir también en N0; en consecuencia, los niveles de correlación en los valores de ACG entre N0 y N1 fueron medio-altos, excepto para el CP_{PLLE}. Esto parecería indicar *a priori* la ausencia de un control genético diferencial según la disponibilidad de N, salvo en el CP_{PLLE}. En oposición a esto, en el Cap. 3 se había detectado la presencia de interacción ACG \times A significativa para casi todos los atributos analizados. Esta aparente contradicción entre ambos resultados: altos niveles de correlación para los valores de ACG entre tratamientos de N vs. presencia de interacción ACG \times A significativa, merece dos consideraciones. Por un lado, que la interacción ACG \times A incluye no sólo el efecto del tratamiento de N sino también la incidencia del efecto del año, principalmente a través de los registros de temperatura y radiación solar experimentados. Dichas variables climáticas resultaron contrastantes entre las dos estaciones de crecimiento evaluadas, sobre todo en el período crítico y en la fase de llenado efectivo (Cap. 2). Por otro lado, los efectos de interacción ACG \times N se deberían más a cambios en la magnitud que en el orden de mérito de las ACGs de las líneas, las cuales tendieron a variar en forma moderada entre condiciones de N, excepto en el caso del CP_{PLLE}. Para este último atributo se observó que varias líneas expresaron valores de ACG de signo contrario al comparar entre niveles de N (Cuadro 4.2).

La correlación entre el valor *per se* de las líneas (i.e. fenotipo) y su valor de ACG fue mayor para sus componentes fisiológicos que para el PG_E, el cual tuvo la correlación más baja (Cuadro 4.1). Aquí se destacaron la TCG, el MCAG y la TDG en sus valores de correlación promedio (ca. 0,70), los cuales a su vez habían presentado una alta proporción de efectos genéticos de naturaleza aditiva (ver Cap. 3). Lo observado sugiere que el valor fenotípico de las líneas resultaría más predictivo del comportamiento del híbrido para los atributos secundarios (en particular para TCG, MCAG y TDG) que para el PG_E. Esto concuerda con lo informado por Betrán et al. (2003c) para RG y sus atributos secundarios, i.e. mayor correlación entre el comportamiento de las líneas y su ACG para los rasgos determinantes del RG que para este último. En consecuencia, resultaría más beneficioso seleccionar a las líneas en función de los caracteres secundarios antes que evaluarlas directamente por PG en combinaciones híbridas. Cabe recordar que el PG_E además tuvo la menor proporción de efectos genéticos aditivos en comparación con sus determinantes fisiológicos (Cap. 3), lo que refuerza aún más la importancia en el uso de sus caracteres secundarios con el fin de mejorar dicho atributo con mayor eficiencia.

Cuando se analizó la correlación entre el valor del rasgo *per se* y la ACG de las líneas para el NGP, el patrón observado fue opuesto al encontrado para el PG_E, ya que dicha correlación fue mayor para el NGP que para los rasgos de crecimiento por planta y relación fuente-destino (Cuadro 4.2). En este caso, seleccionar directamente por NGP

resultaría más eficiente que hacerlo por su principal determinante fisiológico (i.e. TCP_{PC}), y concuerda en parte con la alta proporción de efectos aditivos detectada para dicho atributo (Cap. 3). Es notable, además, que pese a que la correlación para NGP no se modificó entre condiciones de N, sí varió en forma notoria para los rasgos de crecimiento por planta y relación fuente-destino, al igual que para el PG_M , incrementándose todos en N0. Esto se condice con lo informado para RG, donde las correlaciones entre el comportamiento de las líneas y sus ACGs fueron mayores con baja oferta de N (Betrán et al., 2003b). Sin embargo, las líneas usadas por Betrán et al. (2003b) provenían de poblaciones seleccionadas en ambientes con estrés abiótico en general y de N en particular, con la consiguiente esperable acumulación de genes favorables para adaptación a dichas condiciones, mientras que para las líneas evaluadas en esta tesis no sucedió lo mismo. Por consiguiente, la mayor correlación se atribuiría en gran parte al efecto del ambiente explorado en N0, el cual favorece la expresión de efectos aditivos vía disminución del componente de ACE (Cap. 3) y de los niveles de heterosis. En este sentido, merece ser destacado lo observado para el CP_{PLLE} , ya que además de expresar la mayor diferencia en sus correlaciones entre niveles de N ($r_{N0} = 0,52$ vs. $r_{N1} = -0,40$), dicha correlación resultó negativa en N1. Esto indicaría que la componente atribuible al control genético en el valor observado de CP_{PLLE} resultaría baja en comparación con la incidencia del ambiente. Es probable que la caída considerable en la proporción de efectos aditivos en N1 en combinación con el gran aumento en los niveles de heterosis (Cap. 3) sean los principales responsables de la falta de capacidad para predecir el comportamiento del híbrido a partir del de sus líneas parentales en dicha condición de N.

A diferencia de lo comentado en el párrafo anterior para los rasgos de crecimiento de la planta y relación fuente-destino, en N0 se observó una menor correlación entre el valor del rasgo *per se* y la ACG de las líneas para varios rasgos secundarios del PG_E , en particular aquellos que dependen fuertemente de las condiciones exploradas durante el llenado efectivo del grano (DLLG, DLLE, TDG, CHMF; Gambín et al., 2007; Sala et al., 2007a; Borrás y Gambín 2010). Es importante dejar en claro que si bien el modo de acción génica se estima sobre el híbrido, la correlación incluye el fenotipo de las líneas, el cual depende de su respuesta al tipo de estrés aplicado. Como se discutió en el Capítulo 2, el déficit en la oferta de N impacta directamente sobre el crecimiento por planta durante el llenado efectivo, reduciéndose la oferta de asimilados por grano en dicho período (menor CP_{PLLE} grano⁻¹), una tendencia que no se verificó en la relación fuente-destino del inicio del llenado (TCP_{PC} grano⁻¹), la cual permaneció relativamente estable. Esto último concuerda con lo observado para el conjunto de atributos que se define a comienzos del llenado (MCAG, MVG, TCG). Estos dependen de la oferta de asimilados por grano en dicho momento (Borrás y Westgate, 2006; Gambín et al., 2006; 2008), cuyo comportamiento fue opuesto al de la DLLG y sus rasgos asociados. Así, para MCAG, MVG y TCG las correlaciones entre el fenotipo de las líneas parentales y sus ACGs tendieron a no variar o incluso aumentar con la disminución en la oferta de N.

4.4.2. Asociaciones genéticas entre el PG_E y sus componentes fisiológicos

El PG_E se asoció fuertemente en sus efectos genéticos con el MVG, producto de la alta asociación entre ambos en sus componentes de ACG, al igual que entre sus ACEs. Esto sugiere que tanto la vía aditiva como la no aditiva serían importantes en la determinación del PG_E a través del MVG. Los dos mecanismos genéticos principales detrás de las correlaciones genotípicas entre caracteres cuantitativos son la pleiotropía y el ligamiento. En el primero, un gen o conjunto de genes afecta en forma simultánea a

dos o más caracteres, mientras que en el segundo genes independientes se transfieren conjuntamente a la siguiente generación debido a su proximidad física (Falconer y Mackay, 1996). En este sentido, se han detectado varios QTLs co-localizados para PG y MVG (Peng et al., 2011). Numerosos estudios han informado acerca de la fuerte relación entre dichos atributos (Millet y Pinthus, 1984; Kiniry et al., 1990; Saini y Westgate, 2000), definiéndose el MVG poco después de alcanzarse el MCAG, rasgo con el cual a su vez se encuentra íntimamente asociado (Saini y Westgate, 2000; Borrás et al., 2003; Borrás y Westgate, 2006). Esto concuerda con la alta correlación genética observada entre el MCAG y MVG (Fig. 4.5). Si bien ambos atributos se asocian con el peso potencial, el primero depende básicamente del número de células diferenciadas en la fase *lag*, mientras que el segundo integra además la capacidad de expansión de esas células (Sala et al., 2007b), lo que explica su fuerte asociación con el PG_E . Cabe destacar que las correlaciones entre los efectos aditivos (asociaciones ACG-ACG), y entre los no aditivos (asociaciones ACE-ACE) del MCAG y MVG con el PG_E variaron en forma considerable con la condición de N, aumentando marcadamente en N1. Esto se debería al impacto negativo del déficit de N sobre el PG final, por lo que en la condición N0 no se alcanzaría el potencial definido temprano en el llenado y, por lo tanto, el PG pasaría a depender en mayor medida de las condiciones exploradas durante el período de llenado efectivo (ver Cap. 1; Borrás et al., 2004). Así, el PG final estaría determinado principalmente por los atributos secundarios que se definen en dicho período (e.g., DLLE, CHMF y TDG). Esto se sustenta en la mayor correlación observada en N0 respecto de N1 entre el PG_E y los atributos mencionados, sobre todo para sus efectos de ACE.

Los dos determinantes fisiológicos principales del PG_E (i.e. TCG y DLLE) se asociaron genéticamente con este último en forma directa (Cuadro 4.5), pero a través de mecanismos distintos. En la mayor correlación genética del PG_E con la TCG preponderó la vía aditiva (correlación ACG-ACG mayor que ACE-ACE), aunque las asociaciones vía ACE fueron considerables, especialmente en N1. Esto concuerda con la mayor importancia de la TCG respecto de la DLLG para explicar las diferencias en el PG (Borrás y Gambín, 2010). Por el contrario, la DLLG y la DLLE se asociaron genéticamente con el PG_E , sobre todo a través de los efectos de ACE (Cuadro 4.3). En coincidencia con esto último, trabajos previos han referido que la heterosis (asociada comúnmente a efectos no aditivos) para PG se relacionó principalmente con aquella para DLLG (Daynard et al., 1971; Poneleit y Egli, 1979; Alvarez Prado et al., 2013a). La TCG y DLLG son atributos que están controlados por procesos fisiológicos distintos (Borrás y Gambín, 2010), diferenciándose también en sus controles genéticos subyacentes. La presencia de QTLs para PG, TCG y MCAG co-localizados en las mismas regiones cromosómicas (Liu et al., 2011; Li et al., 2012; Alvarez Prado et al., 2013b; Alvarez Prado et al., 2014) respalda la existencia de una base genética común para dichos atributos. Por el contrario, la existencia de QTLs para TCG y DLLG localizados conjuntamente no parece ser tan clara, reportándose ausencia en algunos casos (Alvarez Prado et al., 2013b), y existencia de regiones genómicas comunes en otros (Mandolino et al., 2016). Es importante resaltar que pese a la relativa independencia entre los procesos fisiológicos inherentes a la TCG y DLLG (Borrás et al., 2009; Borrás y Gambín, 2010), ambos atributos se correlacionaron negativamente en sus efectos genéticos (Fig. 4.5), sobre todo en los de naturaleza aditiva (Fig. 4.1), ya que casi no se observaron asociaciones negativas entre sus ACE (Fig. 4.2). No sorprende entonces que ninguna línea haya presentado alta ACG para TCG y DLLG en forma simultánea, lo que refuerza la existencia de un control genético diferencial para ambos determinantes fisiológicos del PG. Así, las líneas que se destacaron en sus ACGs

para PG_E vía alta ACG para TCG (LP2, LP662) presentaron valores bajos de ACG para DLLG; mientras que lo inverso se observó en la línea que se destacó para PG_E vía alta ACG para DLLG (LP561). Esto suma un nivel más de complejidad respecto del proceso de mejoramiento del rasgo primario (i.e. PG), ya que seleccionar por alguno de sus principales caracteres asociados podría ir en detrimento de algún otro/s, reduciéndose el progreso en la selección.

Por lo tanto, en términos generales se pueden diferenciar dos grandes grupos de rasgos secundarios. El primero se asocia genéticamente con el PG_E principalmente mediante efectos aditivos. Este grupo está encabezado por la TCG (relación directa con el PG_E), e integrado además por MVG, MCAG y DFL (asociación indirecta y positiva de la TCG con el PG_E a través de los atributos mencionados). Dicho grupo también posee una incidencia considerable sobre el PG_E , aunque de menor magnitud, mediante efectos no aditivos (sobre todo en el caso del MCAG). En línea con esto, los dos parentales (LP2 y LP662) que se destacaron en sus valores de ACG para PG_E mediante alta ACG para TCG y sus rasgos asociados, generaron una descendencia (LP2×LP662) que se destacó en sus valores de ACE para PG_E . el segundo grupo de atributos está representado por la DLLG, la DLLE (asociación directa con el PG_E) y la CHMF (asociación indirecta negativa). Este grupo afecta al PG_E sobre todo vía efectos no aditivos. Por su parte, la TDG resulta un caso particular, ya que se asocia en forma positiva con el primer grupo en sus efectos de ACE (vía no aditiva), y de manera negativa con el segundo grupo mediante el componente de ACG (vía aditiva). Dichas asociaciones de la TDG resultaron en ambos casos más fuertes en N0, lo que también se tradujo en una asociación más fuerte con el PG_E en dicha condición de N, aunque de signo contrario dependiendo del modo de acción génica considerado (negativa vía ACG y positiva vía ACE; Figs. 4.1A y 4.2A). Este efecto contrario de la TDG sobre el PG_E , sujeto a la vía genética considerada, probablemente sea el responsable de la baja asociación genética entre ambos atributos. En consecuencia, la mejora indirecta del PG_E mediante la TDG, dependerá previamente del rasgo asociado que se pretende mejorar. Así, en el caso de la TCG, será más favorable una mayor TDG, y concuerda con la estrecha asociación entre las dinámicas de ingreso de materia seca y pérdida de agua en la semilla (Gambín et al., 2007). Para aumentar la DLLG, en cambio, será deseable reducir la velocidad con la que se pierde humedad en el grano. Las diferencias ya comentadas en la naturaleza de las asociaciones genéticas en ambos grupos de atributos (TCG y sus determinantes vs. DLLG y sus componentes) poseen importantes implicancias a la hora de incluirlos en el proceso de mejora con el fin de incrementar el peso de grano. En este sentido, aquellos rasgos con preponderancia de correlaciones aditivas serán más apropiados para ser considerados en una selección temprana, ya que los efectos génicos aditivos tienden a mantenerse entre generaciones reproductivas. Por el contrario, los atributos donde prevalecen las correlaciones entre los efectos genéticos no aditivos serán favorables para ser usados en una selección más tardía, i.e. en generaciones más avanzadas dentro del proceso de mejora (Mariotti y Collavino, 2014).

4.4.3. Asociaciones genéticas entre los componentes del rendimiento, crecimiento por planta y relación fuente-destino

El NGP se correlacionó genéticamente con la TCP_{PC} principalmente vía ACG (sobre todo en N0), y a través del componente de ACE sólo en N1. Así, por un lado la asociación genética entre ambos atributos se caracterizaría por la existencia de una porción aditiva preponderante, la cual además predomina en N0; pero por otro lado también se caracterizaría por una proporción de efectos no aditivos, cuya magnitud disminuye en forma considerable en dicha condición de N. Este patrón de correlación de

los efectos de ACG entre NGP y TCP_{PC} bajo distintos niveles de N concuerda con el tipo de respuesta (curvilíneo; Andrade et al., 1999; 2002) del NGP al aumento en la TCP_{PC} . Dicha respuesta inicialmente es alta cuando los valores de TCP_{PC} son bajos-intermedios (comunes en N0), y va disminuyendo con valores cada vez más altos de TCP_{PC} (comunes en N1). Esto a su vez se condice con la correlación genética negativa entre el NGP y la TCP_{PC} grano⁻¹. La misma fue mucho más fuerte en N0, ya que como consecuencia del patrón de respuesta del NGP a la TCP_{PC} descrito, la TCP_{PC} grano⁻¹ aumenta con el incremento en la oferta de N, disminuyendo el impacto negativo del número de granos sobre dicho cociente. Por lo tanto, la eficiencia en la mejora genética del NGP por intermedio de la TCP_{PC} variará con la condición de N, aumentando en N0. Esta respuesta obedecería a que no sólo la proporción de varianzas aditiva en ambos atributos es mayor con baja oferta de N (ver Cap. 3), sino que además aumenta sustancialmente la correlación entre sus efectos aditivos (Cuadro 4.4). Por otra parte, resulta notable la fuerte asociación positiva entre los efectos de ACE del NGP y CP_{PLLE} , sobre todo en N0. Esta correlación robusta en N0 se basaría en la presunción formulada en el capítulo previo respecto del efecto de retroalimentación positivo del número de granos (fuerza de los destinos) sobre la actividad de la fuente durante el llenado (Calderini et al., 1997; Reynolds et al., 2005), principalmente bajo condiciones desfavorables durante el llenado de los granos (Rajcan y Tollenaar; 1999; He et al., 2005). Asimismo, el CP_{PLLE} fue el único atributo cuyo componente de ACE superó en magnitud al de ACG (Cap. 3), por lo que no resulta extraño además que su vía de asociación genética preponderante con el resto de los atributos sea la no aditiva, algo que también se verificó en su correlación con el PG_M (Cuadro 4.4).

El PG_M se correlacionó genéticamente de manera positiva con ambas relaciones fuente-destino (Cuadro 4.6), lo que concuerda con la fuerte asociación entre dicho componente del rendimiento y tanto la TCP_{PC} grano⁻¹ (Gambín et al., 2006; 2008) como el CP_{PLLE} grano⁻¹ (Borrás y Otegui, 2001; Cap. 2). No obstante, el PG_M se asoció sólo por la vía aditiva con la TCP_{PC} grano⁻¹, y tanto por vía aditiva como no aditiva (sobre todo en N1) con el CP_{PLLE} grano⁻¹. La naturaleza de la asociación genética entre el PG_M y la TCP_{PC} grano⁻¹ da lugar a dos consideraciones. Por un lado, pese a que la correlación fenotípica entre ambos atributos disminuyó bajo déficit de N (Cap. 2), su correlación mediante efectos genéticos aditivos se mantuvo (Fig. 4.3; Cuadro 4.4), reflejando una alta estabilidad de la asociación genética entre el PG_M y la TCP_{PC} grano⁻¹ en ambientes contrastantes en N. Por el otro, en la correlación genética entre dichos atributos se destacó el efecto directo de la TCP_{PC} grano⁻¹ sobre el PG_M (Cuadro 4.6), lo que pone en evidencia la importancia de la oferta de asimilados por grano temprano en el llenado en la determinación del peso de la semilla (Gambín et al., 2006). Lo comentado previamente respecto de la naturaleza genética de la asociación entre el peso de grano y la TCP_{PC} grano⁻¹ va en línea con lo observado para la relación entre la TCG y el PG_E ya discutida en la sección anterior. En dicha relación se observó una alta correlación vía efectos aditivos, y preponderancia de efectos directos en la asociación genética de la TCG con el peso del grano. Así, no sorprende que atributos asociados entre sí, como lo son la TCG y TCP_{PC} grano⁻¹ (Gambín et al., 2006), se hayan correlacionado con el PG mediante mecanismos genéticos semejantes.

En relación a lo observado para el CP_{PLLE} grano⁻¹, dicho atributo se asoció genéticamente con el PG_M a través de los efectos de ACG y de ACE, aunque la primera vía fue más importante en N0, mientras que la segunda lo fue en N1. Si además de esto se tiene en cuenta que el PG_M se relacionó fuertemente en sus valores fenotípicos con el CP_{PLLE} grano⁻¹ en ambas condiciones de N (Cap. 1), se pueden diferenciar dos escenarios de selección según la condición de N considerada. Con alta disponibilidad de

N, la mejora del PG mediante altos CP_{PLLE} grano⁻¹ se da sobre una base de efectos genéticos tanto aditivos como no aditivos, pero con preponderancia de estos últimos por la incidencia del CP_{PLLE} (Cuadro 4.6), el cual afecta al PG exclusivamente por la vía no aditiva. Con baja oferta de N, la mejora del PG mediante alto CP_{PLLE} grano⁻¹ se da más que nada vía efectos aditivos (y por lo tanto la selección resulta más efectiva), probablemente debido a una menor incidencia del CP_{PLLE} , pero a causa de un mayor efecto indirecto mediado por la TCP_{PC} grano⁻¹ (Cuadro 4.6). Asimismo, la línea parental que se destacó en sus valores de ACG para PG_M (LP561) también lo hizo para el CP_{PLLE} grano⁻¹, y a su vez, como se comentó previamente, sobresalió para la DLLG y sus componentes asociados (Cuadro 4.1). Esto refleja la fuerte dependencia de la oferta de asimilados disponibles por grano que posee la duración del período en el cual están creciendo los granos (Andrade y Ferreiro 1996; Sala et al., 2007a). En este sentido, sería de interés analizar en profundidad cómo son los patrones de asociación genética de los atributos de crecimiento y partición de asimilados durante el período crítico y de llenado de los granos con los componentes fisiológicos del peso del grano.

Ambos componentes del RG (NGP y PG_M) se correlacionaron genéticamente en forma negativa (Fig. 4.6), producto de la asociación negativa entre sus efectos aditivos (sobre todo en $N0$, Cuadro 4.4), ya que los no aditivos no se asociaron o incluso lo hicieron levemente de manera positiva (Fig. 4.4). Lo observado para la relación entre los efectos de ACG de ambos componentes del RG parecería contradecir la relativa independencia comúnmente encontrada entre los valores fenotípicos de dichos atributos, y por lo tanto, la ausencia de una posible compensación entre ellos. Cabe destacar que ninguna línea presentó alta ACG para NGP y PG_M en forma conjunta, y la que sobresalió en sus valores de ACG para NGP (B100) se ubicó entre las peores para PG_M , mientras que el patrón inverso se observó en el parental de alta ACG para PG_M (LP561). Este patrón de asociación genética entre los componentes del RG es análogo al observado previamente entre los dos determinantes del PG_E (TCG y $DLLG$), y advierte tanto respecto de la dificultad de acumular alelos favorables para PG y NG en forma simultánea como de la existencia de posible relaciones negativas entre ambos rasgos, lo que dificultaría aún más el proceso de mejora genética del RG.

4.5. Conclusiones

En este capítulo se aplicó un enfoque que combina un modelo basado en genética cuantitativa con uno ecofisiológico, con la finalidad de descomponer un atributo complejo en sus componentes fisiológicos, y analizar los mecanismos genéticos preponderantes en la determinación del atributo de interés. La correlación entre el valor *per se* de las líneas y su ACG fue mayor para sus atributos secundarios que para el PG_E , siendo beneficiosa la selección de las líneas mediante sus componentes fisiológicos antes que su evaluación directa por peso de grano. Dicha correlación disminuyó en $N0$ para los atributos que dependen de las condiciones exploradas durante el llenado efectivo ($DLLG$, $DLLE$, TDG y $CHMF$), mientras que se mantuvo o aumentó entre los que se definen a inicios del período de llenado (MVG , $MCAG$ y TCG). El impacto negativo del déficit de N sobre el crecimiento post-floración explicaría en parte el patrón de respuesta diferencial entre ambos grupos de atributos.

El PG_E se asoció genéticamente en forma más fuerte con el MVG y la TCG que con la $DLLG$, y mediante mecanismos distintos. La TCG junto con el MVG , el $MCAG$ y la DFL se asociaron positivamente entre sí y con el PG_E principalmente mediante efectos aditivos; mientras que la $DLLG$ junto con el $DLLE$ y la $CHMF$ afectaron al PG_E casi exclusivamente a través de la acción génica no aditiva. En términos del mejoramiento, los rasgos asociados al PG_E vía efectos aditivos serán más apropiados para ser

considerados en una selección temprana, producto de la estabilidad que poseen dichos efectos génicos entre generaciones reproductivas. El NGP se correlacionó positivamente con la TCP_{PC} sobre todo mediante la acción génica aditiva, pero negativamente con la $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$, y de manera más fuerte en N0. Este patrón se debería a la alta respuesta inicial del NG a la TCP_{PC} , cuando ésta explora un rango de valores bajos/intermedios (comunes en N0), la cual disminuye con valores de TCP_{PC} altos, típicos de una condición de suficiencia de N. El PG_M se correlacionó positivamente vía efectos aditivos con la $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$, lo que refleja la importancia de dicho atributo en la definición del PG; mientras que se asoció con el $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$ mediante la acción aditiva en N0, y no aditiva en N1. Por un lado, la fuerte incidencia del CP_{PLLE} en N1, cuya vía de asociación preponderante fue la no aditiva, y por el otro, la mayor incidencia relativa de la fuente de asimilados por grano del período crítico en N0, explicarían el patrón genético diferencial en la asociación $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1} - PG_M$ según la condición de N.

“Discusión general”

5.1. Contexto de la problemática abordada

La producción actual y futura de la mayoría de los cultivos extensivos se encuadra en un contexto caracterizado por un incremento en la frecuencia e intensidad de eventos climáticos cada vez más extremos (IPCC, 2014), lo que se traduce en condiciones de producción mucho más hostiles. A su vez, existe una creciente necesidad de hacer un uso más eficiente de los insumos/recursos, no sólo por su alto costo en términos económicos, sino también por las consecuencias negativas sobre el ambiente derivadas de su uso desmedido (e.g. fertilizantes, plaguicidas) y producción, o el aumento de la demanda para consumo humano (e.g. agua para riego) (Tilman et al., 2002; Connor et al., 2011; Fisher y Connor, 2018). En consecuencia, será deseable que los cultivos expresen no sólo una alta estabilidad en sus rendimientos alcanzados, sino también una alta eficiencia en el uso de los recursos disponibles. En este sentido, la disponibilidad de N es uno de los factores abióticos más importantes que afectan el crecimiento y rendimiento del cultivo de maíz. La selección y desarrollo de cultivares superiores en la utilización del N es una manera de reducir el impacto de la deficiencia del mismo sobre la producción de este cultivo (Lafitte y Edmeades, 1994). Dicha selección requiere del análisis en ambientes sub-óptimos en cuanto a la disponibilidad de N, pero tales ambientes no son muy favorables para los mejoradores, ya que en ellos la variabilidad ambiental aumenta, disminuyendo la heredabilidad, lo que resulta en una menor tasa de ganancia genética (Rosielle y Hamblin, 1981). Por tal motivo, es deseable el desarrollo de estudios en ambientes no potenciales que evalúen la respuesta de los distintos atributos que definen el rendimiento. La mayoría de los estudios basados en el impacto de la disponibilidad de N se han centrado en caracteres asociados principalmente con el componente numérico más importante del rendimiento (i.e. el NG), siendo escasa la existencia de aquellos que consideren los rasgos fisiológicos que determinan el peso de grano, y menos aún que realicen un análisis del control genético de los mismos. Bajo este contexto el objetivo principal de esta tesis fue “*estudiar las bases fisiológicas y genéticas que controlan el peso de grano (PG) en maíz (Zea Mays, L.) en ambientes contrastantes en disponibilidad N*”. Para cumplir con dicho objetivo se analizaron los principales componentes fisiológicos del peso de grano, y de las relaciones de partición de biomasa (relación fuente-destino) durante el período crítico y el llenado efectivo del grano. Se llevaron a cabo estudios fisiológicos a campo tendientes a cuantificar la varianza genética y sus componentes (i.e. varianza aditiva y no aditiva) sobre un conjunto de genotipos diversos (líneas endocriadas de distinto origen y sus híbridos derivados), utilizando un diseño de cruzamientos dialélico completo. Este capítulo comienza con el contraste de las hipótesis que guiaron los tres capítulos de resultados que conforman la tesis, describiendo los hallazgos principales que se desprenden de dichos resultados. Asimismo, se propone un novedoso modelo conceptual fisiológico-genético (Figura 5.1), el cual integra la naturaleza y modo de acción de las asociaciones genéticas entre los caracteres encuadrándose en un marco fisiológico. Luego se describen las principales contribuciones al conocimiento e implicancias de los hallazgos obtenidos. Se finaliza mencionando y detallando brevemente los nuevos interrogantes surgidos, y en conexión con ellos se plantean las líneas de investigación tentativas a realizarse a futuro.

5.2. Contraste de hipótesis

A lo largo de la tesis se abordaron tres objetivos específicos que guiaron los tres capítulos de presentación de resultados que la componen. El primer objetivo fue

“evaluar la respuesta del peso de grano a la disponibilidad de N a través del efecto de condiciones de N contrastantes sobre la relación fuente-destino durante el período crítico (TCP_{PC} grano⁻¹) y el llenado efectivo (CP_{PLLE} grano⁻¹); a su vez, caracterizar dichas respuestas en distintos grupos genotípicos (i.e. líneas endocriadas e híbridos)”. A partir de los resultados del Capítulo 2, se observó que el efecto de la oferta de N sobre el peso de grano estuvo mediado por cambios en el CP_{PLLE} grano⁻¹, pero no por cambios en la TCP_{PC} grano⁻¹ (Figs. 2.1 y 2.3). El crecimiento en post-floración fue el principal responsable de la respuesta del CP_{PLLE} grano⁻¹ a la disponibilidad de N; mientras que la variación de similar magnitud de la TCP_{PC} y el NGP con el cambio en la oferta nitrogenada fue el responsable de la ausencia de variación de la TCP_{PC} grano⁻¹ entre niveles de N (Cuadros 2.3 y 2.4). A partir de este hallazgo se infirió que los cambios en el peso de grano final en respuesta al N no estuvieron asociados a cambios en el peso potencial. En consecuencia, se planteó que ante un déficit de N se produciría un desacople entre ambas relaciones fuente-destino, producto de la notable disminución en el crecimiento en post-floración (i.e. CP_{PLLE}), y que dicho desacople sería el responsable de la falta de respuesta del peso de grano final a la TCP_{PC} grano⁻¹. Por lo tanto, no existen evidencias suficientes para rechazar la **hipótesis 1.a** que establece que “el efecto de la disponibilidad de N sobre el peso de grano está asociado principalmente con cambios en la relación fuente-destino durante el período de llenado efectivo”. Por su parte, híbridos y líneas exploraron similar TCP_{PC} grano⁻¹, pero el CP_{PLLE} grano⁻¹ de los híbridos fue mucho más alto, como resultado de su mayor respuesta del crecimiento por planta durante el llenado del grano al aumento en la oferta de N (CP_{PLLE} , Cuadro 2.4). Por consiguiente, no se rechaza la **hipótesis 1.b** que plantea que “las diferencias entre líneas e híbridos en sus valores de asimilados disponibles por grano serán mayores durante el período de llenado efectivo, como resultado de una mayor respuesta a la disponibilidad de N del crecimiento por planta en post-floración en los híbridos en relación a las líneas”. De todas maneras, cabe destacar que esta no sería la causa del menor peso de grano alcanzado por las líneas. Para dichos genotipos, la ausencia de un efecto claro del N sobre el PG y el CP_{PLLE} grano⁻¹ (Cuadro 2.4; Fig. 2.1B), sumado a la débil relación entre el PG y la TCP_{PC} grano⁻¹ (aún con alto nivel de N; Fig. 2.3B), se debería a un efecto *per se* de restricción a la expansión de la semilla producto de la depresión por endocría. Esto resultaría en una limitación intrínseca de las líneas en la determinación de su PG potencial.

El **segundo objetivo** consistió en “determinar para los atributos evaluados la variabilidad de los componentes genético (G), ambiental (A) e interacción $G \times A$, y su heredabilidad. A su vez, analizar la naturaleza de los efectos genéticos a lo largo de distintos ambientes, los cuales estuvieron dados por disponibilidad de N contrastante (alto y bajo contenido de N) y variabilidad interanual (radiación solar incidente, temperatura del aire)”. A partir de los resultados del Capítulo 3 se observó que en casi la totalidad de los rasgos evaluados predominaron los efectos genéticos aditivos, a partir de la superioridad del componente de aptitud combinatoria general (ACG) sobre el de la específica (ACE) (Cuadros 3.3 y 3.4). Además, la proporción de varianza genética aditiva aumentó en la condición de baja oferta de N en casi la totalidad de los caracteres analizados (Fig. 3.2). Este incremento estuvo dado en mayor medida por la disminución en el componente de ACE, el cual expresó en promedio una alta sensibilidad al cambio en la disponibilidad de N, reduciéndose notablemente con la disminución en la oferta de dicho nutriente (Fig. 3.3). El mismo patrón se observó para los niveles de heterosis, cuyas magnitudes aumentaron con alta disponibilidad de N (Fig. 3.4) sobre todo en el grupo de atributos de crecimiento por planta, partición de biomasa durante las etapas

reproductivas y componentes del rendimiento. Por lo tanto, no fue posible rechazar la **hipótesis 2** que propone que *“en condiciones potenciales se maximiza la expresión de los efectos genéticos de naturaleza no aditiva, lo que se traducirá en incrementos en la magnitud del componente de aptitud combinatoria específica y en los niveles de heterosis. En ambientes sub-óptimos, menos favorables para la expresión de los efectos no aditivos, aumentará la proporción de la varianza genética aditiva respecto de la variabilidad genética total”*.

Adicionalmente, el PG_E tuvo la menor proporción de varianza génica aditiva en comparación con sus componentes fisiológicos (Fig. 3.2A), lo que evidenció la importancia del uso de los caracteres secundarios con el fin de mejorar el peso del grano; sin embargo, lo inverso se observó para el NGP, ya que dicho componente del rendimiento expresó altos valores de heredabilidad y de varianza aditiva. Entre los atributos secundarios del PG_E se destacaron la TDG, la DFL y el MCAG por sus altos niveles de heredabilidad y proporción de varianza aditiva, superando a los dos principales determinantes del peso de grano (i.e. TCG y DLLG) (Cuadro 3.3; Fig. 3.2A). Por su parte, se observó un control génico fuertemente aditivo para el CP_{PLLE} grano⁻¹ y PG_M , aunque en el CP_{PLLE} preponderaron los efectos no aditivos y su heredabilidad fue baja (Cuadro 3.4; Fig. 3.2B). Se sugirió que la existencia de un retrocontrol positivo entre el número de granos y la actividad de la fuente durante el crecimiento de los granos (Calderini et al., 1997; Reynolds et al., 2005) sería el responsable de que el CP_{PLLE} grano⁻¹ se mantenga mucho más estable frente a los cambios en el ambiente explorado durante el llenado de los granos que el CP_{PLLE} .

El **tercer objetivo** consistió en *“analizar los patrones de asociación genética entre los atributos mediante las correlaciones de tipo aditivo–aditivo y no aditivo–no aditivo, examinando a su vez la naturaleza directa o indirecta de dichas correlaciones con el fin de comprender los mecanismos genéticos subyacentes de la expresión del peso de grano”*. En el Capítulo 4 se estableció que el PG_E guarda una asociación genética más fuerte con el MVG y la TCG que con la DLLG (Cuadro 4.5), y a su vez, los mecanismos de asociación variaron entre los distintos rasgos. Así, se diferenciaron dos grupos de atributos: el primero, integrado por la TCG y sus atributos asociados (MVG, MCAG, DFL), los cuales se correlacionaron con el PG_E principalmente vía efectos aditivos; y el segundo, conformado por la DLLG, la DLLE y la CHMF, que se asociaron con el PG_E sobre todo vía efectos no aditivos (Cuadro 4.3; Figs. 4.1 y 4.2). En consecuencia, se hizo en dicho capítulo alusión a las distintas implicancias derivadas del uso de cada uno de los grupos de atributos secundarios en el mejoramiento, destacándose la ventaja de los rasgos asociados al PG_E vía efectos aditivos para ser usados en una selección temprana dentro del proceso de mejora genética del peso del grano. Asimismo, el PG_M se correlacionó, positivamente y en magnitud similar para ambas condiciones de N, vía efectos aditivos con la TCP_{PC} grano⁻¹, lo que reflejó la importancia de dicho atributo en la definición del PG; la asociación con el CP_{PLLE} grano⁻¹, en cambio, fue sobre todo vía efectos aditivos en N0 y no aditivos en N1 (Cuadro 4.4; Figs. 4.3 y 4.4). Entre las causas detrás del patrón genético diferencial en la asociación CP_{PLLE} grano⁻¹– PG_M según el nivel de N se mencionó, por un lado, la fuerte incidencia del CP_{PLLE} en la condición de alta oferta de N, cuyo modo de asociación fue exclusivamente en base a efectos no aditivos; por el otro, la mayor incidencia relativa de la fuente de asimilados por grano del período crítico fue condicionante del PG_M en la condición de bajo N. Por lo tanto, no hubo evidencias suficientes para rechazar la **hipótesis 3** que señala que *“es posible identificar patrones de asociación genética entre el peso de grano y sus determinantes fisiológicos,*

cuantificando para dichos caracteres la importancia del tipo de acción génica preponderante para el logro de altos pesos de grano. Genotipos que expresen elevada aptitud combinatoria para dicho atributo también la expresarán para alguno/s de sus componentes fisiológicos”. Respecto del NGP, se detectó una asociación genética positiva y dominada por los efectos aditivos con la TCP_{PC} , pero negativa y más fuerte en N0 con la TCP_{PC} grano⁻¹ (Cuadro 4.4; Figs. 4.3 y 4.4). Se argumentó que este patrón se debería a la alta respuesta inicial del NGP a la TCP_{PC} cuando esta última explora un rango de valores bajos/intermedios (comunes en N0), respuesta que va disminuyendo conforme los valores de TCP_{PC} son más altos (típicos de la condición N1 del presente trabajo). Se detectó una correlación genética negativa entre ambos componentes del RG (NGP y PG_M) producto de la asociación negativa entre sus efectos aditivos (sobre todo en N0), lo que advierte respecto de la dificultad de acumular alelos favorables en forma simultánea para PG y NG, así como de la existencia de efectos de compensación entre ambos. Esto resulta en un nivel mayor de complejidad dentro del proceso tendiente a mejorar el RG.

Dentro del tercer objetivo se buscó también “caracterizar a las líneas en cuanto a su aptitud combinatoria, y determinar el grado de correlación entre el valor per se de las líneas y su aptitud combinatoria general”. Se encontró que dicha correlación fue mayor para sus atributos secundarios que para el PG_E (Cuadro 4.1), de manera que se concluyó que sería beneficiosa la selección de las líneas mediante sus componentes fisiológicos antes de su evaluación directa por peso de grano. Además, las correlaciones disminuyeron con bajo nivel de N en los atributos dependientes de las condiciones exploradas durante el llenado efectivo (DLLG, DLLE, TDG y CHMF), mientras que se mantuvieron o incluso aumentaron en los rasgos que se definen a inicios del llenado (MVG, MCAG y TCG). Se hizo alusión al impacto negativo del déficit de N sobre el crecimiento de la planta en post-floración como el causal de las diferencias en el patrón de respuesta observado entre ambos grupos de atributos secundarios.

5.3. Mecanismos de asociación genética del peso del grano y sus determinantes fisiológicos: un modelo conceptual

En la Figura 5.1 se presenta un esquema conceptual que integra las vías de asociación genética entre los atributos analizados, y la naturaleza directa e indirecta de dichas asociaciones, tomando como marco de referencia las relaciones fisiológicas ya conocidas entre los atributos y descritas en el capítulo 1. A su vez, se indica para cada rasgo el sentido y la magnitud de variación en la proporción de efectos aditivos y en los niveles de heredabilidad al pasar de la condición de alta a baja oferta de N.

En la determinación genética del PG intervienen directamente (i) la TCG mediante efectos aditivos principalmente y no aditivos en menor medida, y (ii) la DLLE mediante la vía no aditiva. A su vez, ambos atributos se correlacionan negativamente en sus efectos genéticos, sobre todo en los de naturaleza aditiva. El MVG, el MCAG y la DFL afectan indirectamente y de manera positiva al PG vía su efecto sobre la TCG mediante la acción génica aditiva y no aditiva. La TDG impacta indirectamente sobre el PG, por un lado, a través de su efecto positivo de tipo no aditivo mediado por la TCG, y por el otro, mediante la incidencia negativa sobre la DLLE por la vía aditiva. Por su parte, la CHMF impacta sobre el PG por intermedio de la regulación genética negativa sobre la DLLE, la cual se da por vía aditiva y no aditiva. Adicionalmente, en el esquema se puede visualizar la magnitud del aumento en la proporción de los efectos aditivos en la condición de bajo N tanto para el PG como para sus atributos secundarios. Para dicha variable se destaca la respuesta del MVG, CHMF y DFL. Lo mismo se puede observar

para los niveles de heredabilidad, los cuales aumentan en la condición de bajo N en casi todos los atributos (sobre todo en MVG y DFL).

Respecto de la determinación genética del PG a partir de los atributos de producción y partición de biomasa durante el período crítico y el llenado efectivo, se observa la incidencia directa de la TCP_{PC} grano^{-1} por la vía genética aditiva, y del CP_{PLLE} por la vía no aditiva. A su vez, el CP_{PLLE} se encuentra regulado por la TCP_{PC} grano^{-1} (negativamente) y el NGP (positivamente) vía efectos no aditivos. La TCP_{PC} grano^{-1} afecta también el CP_{PLLE} grano^{-1} pero por la vía aditiva, y este último impacta fuertemente sobre el PG pero en forma indirecta, mediado por la incidencia del CP_{PLLE} . El NGP, el cual se asocia con la TCP_{PC} por ambos modos de acción génica, regula (en forma negativa) las relaciones fuente-destino vía efectos aditivos, impactando negativamente sobre el PG. Es contrastante lo que sucede entre ambas relaciones fuente-destino cuando se considera el efecto de la disminución en la oferta de N sobre los valores de heredabilidad y proporción de efectos aditivos. Así, ambos parámetros se incrementan para el CP_{PLLE} grano^{-1} , pero disminuyen en la TCP_{PC} grano^{-1} , sobre todo en lo referido a la heredabilidad. Asimismo, los niveles de heredabilidad también se reducen con la caída en la oferta de N en los atributos de crecimiento por planta, y en menor medida, en el NGP.

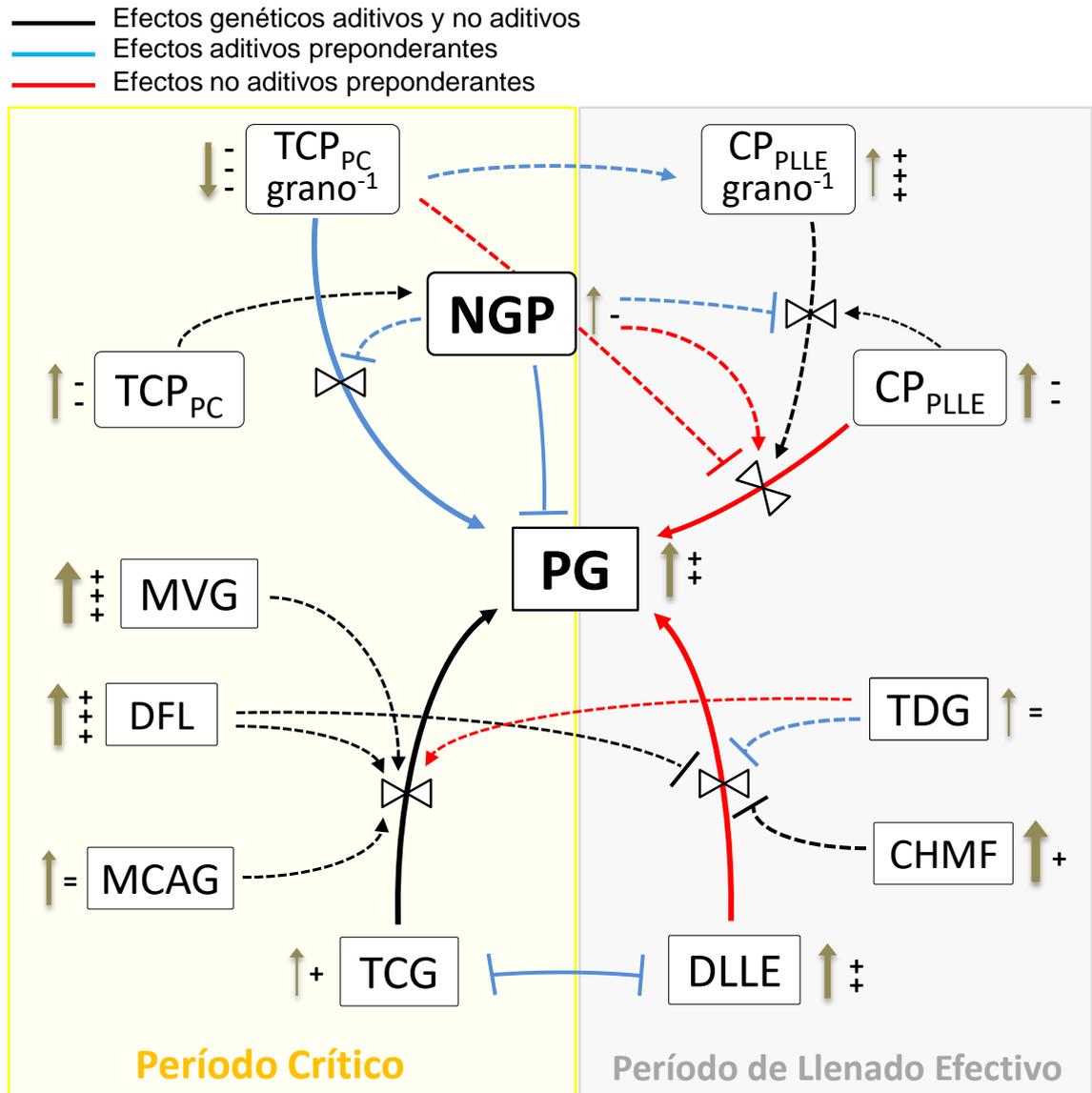


Figura 5.1. Esquema general de los principales mecanismos genéticos asociados a la determinación del peso de grano (PG) identificados en esta tesis. Las flechas continuas representan efectos directos y las punteadas efectos indirectos las cuales controlan las llaves de flujo que regulan a las variables de efectos directos. Conectores con punta triangular y lisa representan efectos positivos y negativos, respectivamente. Al costado de cada atributo se indica su nivel de cambio al pasar de N0 a N1 para la proporción de varianza aditiva (flecha vertical gris oscuro) y heredabilidad en sentido amplio (H^2 , +,-,=). CHMF: concentración de humedad a madurez fisiológica; CP_{PLLE} : crecimiento por planta durante el período de llenado efectivo; DFL: duración de fase *lag*; DLLE: duración del llenado efectivo del grano; MCAG: máximo contenido de agua del grano; MVG: máximo volumen del grano; NGP: número de granos por planta; TCG: tasa de crecimiento del grano; TCP_{PC} : tasa de crecimiento por planta durante el período crítico; TDG: tasa de desecación del grano.

5.4. Contribución al avance del conocimiento

5.4.1. Efecto del nitrógeno sobre el peso de grano

El estrés causado por el déficit de N consiste en una restricción progresiva cuyo efecto se va intensificando conforme avanza el ciclo del cultivo, y afecta fuertemente ambos componentes numéricos (NG y PG) del rendimiento en grano (Uhart y Andrade, 1995b). El efecto sobre el componente NG está ampliamente estudiado; sin embargo, la incidencia sobre el PG se encontraba escasamente abordada desde lo fisiológico y mucho más en lo que se refiere a su control genético en condiciones contrastantes del nutriente. Respecto del impacto de la disponibilidad de N sobre la determinación del PG, en la presente tesis se ha demostrado que el mismo no se produce mediante un efecto sobre la definición del peso potencial, sino principalmente sobre la “realización” de dicho potencial durante la fase de crecimiento activo del grano. Esto refleja la importancia del período de llenado efectivo cuando se considera un déficit como el de N, destacándose la oferta de fotoasimilados por grano de dicha fase ($CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$) como un indicador fisiológico directo del impacto de la restricción nitrogenada sobre el PG alcanzado.

Asimismo, en esta tesis se ha demostrado que existen diferencias entre grupos genotípicos en las respuestas de sus respectivos PGs a los cambios en la oferta de N. Esto se verificó a partir de las diferencias entre líneas e híbridos en los atributos fisiológicos responsables de un PG superior, en particular en la condición de alta provisión de N. En dicha condición, la $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$ resulta preponderante en la determinación del PG en híbridos pero no en líneas, como resultado de la restricción inherente (i.e. depresión por endocria) en las líneas a la expansión de la semilla. Estas respuestas diferenciales merecen ser tenidas en cuenta en el proceso de mejoramiento del PG, ya que estos hallazgos demuestran que los mecanismos fisiológicos responsables de un PG superior en las líneas no serían los mismos que en los híbridos.

5.4.2. Mejoramiento en ambientes sub-óptimos

La principal desventaja de aplicar mejoramiento en ambientes no potenciales reside en la falta de uniformidad en las condiciones exploradas a nivel de lote (Baenziger et al., 2006). Esto afecta negativamente la heredabilidad del rasgo cuantitativo que se pretende mejorar, y la tasa de ganancia genética se reduce (Richards, 1996; Araus et al., 2002; Duvick, 2005; Makumbi et al., 2011). Es por ello que la combinación de condiciones potenciales y alta densidad poblacional han resultado exitosos en el mejoramiento en términos de obtención de materiales de alto rendimiento y alta estabilidad en el mismo (Duvick, 2005). No obstante, Lafitte et al. (1997) han notado algunas desventajas de llevar adelante el proceso de mejora en ausencia de restricción de recursos (hídricos, nutricionales), principalmente en relación a la pérdida de rasgos adaptativos asociados con su capacidad de captura y eficiencia de uso. En consecuencia, resulta necesario que los programas de mejoramiento desarrollen estrategias para aplicar selección en condiciones de baja oferta de nitrógeno (Tester y Landgridge, 2010). La eficiencia de selección para RG en dichas condiciones se puede incrementar mediante la selección de atributos secundarios que estén correlacionados con el RG en ambientes de bajo N (Bänziger y Lafitte, 1997; Badu-Apraku et al., 2011; 2012).

En la presente tesis se ha demostrado que en los ambientes sub-óptimos aumentaría la eficiencia del proceso de mejora genética, al seleccionar sobre una base mayor de efectos génicos aditivos (i.e. predecibles), producto del incremento en la proporción de varianza aditiva en los ambientes con baja oferta de N. En consecuencia, se ha propuesto como alternativa llevar adelante el proceso de mejoramiento genético en

condiciones de disponibilidad de N moderadas, fácilmente alcanzables con una fertilización en baja dosis, con el fin de reducir el efecto de la heterogeneidad espacial (y por lo tanto, minimizar la componente de varianza no genética), y al mismo tiempo favorecer la expresión de los efectos genéticos aditivos. Respecto de la proporción de varianza genética total, la misma parece no variar o incluso aumenta en N0. Esto se desprende de lo observado en el nuevo esquema fisiológico-genético (Fig. 5.1), puntualmente en la variación entre condiciones de N para los niveles de heredabilidad del PG y sus componentes fisiológicos. Esto implica que la selección fenotípica se realizaría sobre un componente de efectos genéticos mayor, el cual a su vez estará conformado por una porción aditiva también mayor, lo que se traduce en mayor respuesta a la selección aplicada. No obstante, para el conjunto de atributos compuesto por los componentes del RG, relación fuente-destino y crecimiento por planta se observa en general una disminución de la heredabilidad en la condición N0. Esto refleja la alta sensibilidad de dichos atributos a la mayor heterogeneidad en el ambiente generada en N0, y la ventaja mencionada respecto de aplicar fertilizaciones moderadas. Pese a esta reducción en los niveles de heredabilidad, la proporción de los efectos aditivos aumentó en N0, patrón que se observó de manera contundente en casi la totalidad de los atributos evaluados en esta tesis.

5.4.3. Mecanismos de asociación genética del peso de grano y sus componentes fisiológicos

El PG resulta de la combinación de dos atributos principales, TCG y DLLG, los cuales se definen en distintos momentos del llenado, y a su vez, se asocian con distintos procesos fisiológicos (Borrás y Gambín, 2010). Si bien existen numerosos estudios acerca del modo de herencia para los atributos evaluados en la presente tesis (Cross, 1975; Alvarez Prado et al., 2013a,b; 2014; Wang et al., 1999; Josue y Brewbaker, 2018), es escaso el conocimiento de las vías genéticas de asociación entre los caracteres del PG, y nulo directamente si se pretende considerar en el análisis niveles contrastantes en oferta de N. En esta tesis se ha demostrado que el PG se asocia genéticamente con sus dos principales determinantes en forma directa (Fig. 5.1), pero mediante mecanismos genéticos distintos, lo que permitió diferenciar dos grandes grupos de atributos. Así, prepondera la vía aditiva en su relación con la TCG y sus atributos asociados (MVG, TCG y DFL), y la no aditiva con el grupo integrado por la DLLG, la DLLE y la CHMF (Fig. 5.1). Asimismo, la TDG se mantuvo por fuera de esta clasificación, ya que para dicho carácter se detectó una asociación positiva por la vía no aditiva con la TCG, y negativa y preponderantemente aditiva con la DLLG (Fig. 5.1), lo que determina que el logro de una mayor o menor TDG dependerá del atributo que se pretenda mejorar. Las diferencias entre ambos grupos de atributos en la naturaleza de las correlaciones genéticas con el PG poseen importantes implicancias respecto de su uso en el mejoramiento, específicamente en lo referido al momento más apropiado para ser considerados dentro del proceso de mejora (Mariotti y Colavino, 2014). Para los rasgos entre los que preponderan las vías de asociación aditiva resultaría más efectiva su inclusión temprana en el mejoramiento, ya que los efectos genéticos aditivos se mantendrán entre generaciones reproductivas (Hallauer y Carena, 2009). Por el contrario, los atributos donde prevalecen las correlaciones entre los efectos genéticos no aditivos, serán favorables para ser usados en una selección más tardía, cuando el proceso de mejora se encuentra en etapas avanzadas (Hallauer y Carena, 2009). Merece ser destacada la presencia de correlación genética negativa entre TCG y DLLG, sobre todo en sus efectos aditivos, a pesar de la relativa independencia fisiológica existente entre ambos caracteres (Borrás et al., 2009; Borrás y Gambín, 2010). Esto advierte

sobre posibles efectos no deseados respecto de la mejora genética del PG vía sus atributos secundarios, ya que hacerlo por alguno/s de sus principales rasgos podría afectar negativamente a otro/s, resultando en una disminución del progreso en la selección.

En relación a los patrones de asociación genética del PG con los atributos de crecimiento por planta y partición, se destaca la estrecha asociación genética de tipo aditiva con la $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$ (Fig. 5.1), lo que sustenta la fuerte respuesta comúnmente observada del PG en sus valores fenotípicos frente a los cambios en la $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$ (Gambín et al., 2006). Lo observado para el CP_{PLLE} también merece ser destacado, no sólo por su incidencia directa sobre la determinación genética del PG (vía efectos no aditivos), sino porque además dicho atributo se vio afectado negativamente por la $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$ y positivamente por el NGP, en ambos casos por la vía genética no aditiva (Fig. 5.1). Así, el NGP se asocia genéticamente con ambos rasgos del crecimiento por planta, ya que en primer término responde fuertemente a la TCP_{PC} , y luego afecta positivamente al CP_{PLLE} vía el efecto mencionado de retroalimentación positivo de la magnitud de los destinos sobre la actividad de la fuente durante el llenado de los granos. De todas maneras, esto no significa que el crecimiento por planta por grano fijado resulte más alto; de hecho, se observó lo contrario, ya que el NGP se asoció negativamente con la $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$ y el $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$ (Fig. 2.4), atributos con los que el PG se relaciona positivamente. En consecuencia, y a pesar de la relativa independencia fisiológica comúnmente señalada entre ambos componentes del rendimiento, NGP y PG se asociaron negativamente en sus efectos genéticos aditivos (Figs. 4.3 y 4.6). Este hallazgo resulta importante y pone en evidencia no sólo la dificultad de mejorar el RG simultáneamente por ambos componentes, es decir, acumular genes favorables para PG y NGP al mismo tiempo, sino que además advierte respecto de la presencia de efectos de compensación negativa entre dichos atributos.

5.5. Nuevos interrogantes y futuras líneas de investigación

5.5.1. Variabilidad genotípica en la respuesta del peso de grano a la oferta de nitrógeno mediada por los cambios en la relación fuente-destino

En esta tesis se evaluó el impacto de la oferta de N en la determinación del PG a través del efecto en la oferta de asimilados por grano durante el llenado, considerando además dos grupos genotípicos contrastantes, i.e. líneas endocriadas e híbridos simples. La razón por la cual se evaluaron ambos grupos fue poder entender fisiológicamente sus respuestas en términos generales, aportando conocimiento valioso para ser considerado en mejoramiento genético con el objetivo de aumentar el PG. No obstante, poco se indagó respecto de la incidencia de las condiciones climáticas experimentadas en cada estación de crecimiento (i.e. efecto del año experimental) sobre el efecto del tratamiento de N (i.e. interacciones del N con otros factores del ambiente, como los de naturaleza foto-termal). Más importante aún, no se exploró en detalle la variabilidad genotípica observada en la respuesta de los híbridos. En este sentido, no sorprendió la gran variabilidad encontrada en la respuesta a la oferta de N dentro de los híbridos tanto para los valores de oferta de asimilados por grano como para los de PG, ya que se trató de un *pool* de genotipos contrastante (flint, semiflint, semidentados). Es sabido que genotipos de distinto tipo de grano varían considerablemente en sus PG potencial, final y en sus relaciones de partición durante el llenado (Severini et al., 2011; Tamagno et al., 2015). En consecuencia, resultará deseable que estudios futuros analicen en detalle las respuestas de híbridos de distinto tipo de grano frente a los cambios en la oferta de N para el PG y la relación fuente-destino durante el crecimiento de los granos, con el fin de entender las diferencias en las repuestas observadas entre genotipos de distinto fondo genético como los evaluados en la presente tesis.

5.5.2. Asociaciones genéticas entre los rasgos de partición de biomasa y componentes fisiológicos del peso de grano

La TCG se asocia principalmente con la determinación del PG potencial, y guarda buena correlación con la disponibilidad de asimilados por grano durante la etapa temprana del llenado, i.e. $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$ (Gambín et al., 2006). En cambio, la DLLG depende fuertemente de la producción de asimilados durante el período de llenado efectivo del grano (Kiniry et al., 1992; Andrade y Ferreiro, 1996). Respecto de la TCG y la $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$, se observó que ambos atributos ejercieron un efecto similar sobre la determinación genética del PG, asociándose con este último de manera directa y mediante la acción génica aditiva. Sumado a esto, líneas que se destacaron en su aptitud combinatoria para TCG también sobresalieron para $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$. Por su parte, la DLLG y el CP_{PLLE} ejercieron su efecto sobre el PG también en forma parecida, ya que ambos se asociaron con éste directamente y mediante efectos génicos no aditivos. En este sentido, sería de interés analizar en profundidad cómo son los patrones de asociación genética de los atributos de crecimiento y partición de asimilados del período crítico y llenado de los granos con los componentes fisiológicos del PG. Esto permitiría ampliar el modelo actual de análisis hacia uno de mayor alcance en términos de asociaciones entre variables, lo que probablemente mejoraría el entendimiento de la determinación genética del peso del grano.

5.5.3. Regresiones aptitud combinatoria general de las líneas parentales-fenotipo de los híbridos

El grado de correlación entre el fenotipo de la línea parental y el de su progenie híbrida depende en gran medida de la proporción de varianza genética correspondiente a

la fracción de genes aditivos (Falconer y Mackay, 1996), que son los que se transmiten de una generación a la siguiente. En esta tesis se evaluó el grado de correlación entre el fenotipo de las líneas y su ACG para los atributos de interés con el fin de conocer en qué grado el comportamiento *per se* de las líneas se refleja vía efectos aditivos en su progenie. Otras metodologías son también usadas con fines parecidos, como por ejemplo la regresión padre-progenie, la cual constituye una herramienta sencilla para evaluar el grado de semejanza entre individuos emparentados entre generaciones reproductivas para un determinado rasgo. Sin embargo, el valor de ACG de la línea parental resulta ser un predictor más confiable del comportamiento del híbrido que su valor fenotípico *per se* (Gilbert et al., 1958). Esto se vuelve más evidente aún cuando las determinaciones se llevan a cabo en ambientes sub-óptimos, donde las correlaciones fenotípicas entre líneas e híbridos dependen además de sus tipos de respuesta al nivel de estrés aplicado (Betrán et al., 2003b), poniendo en evidencia las limitaciones en el uso de las estimaciones basadas en regresiones padre-progenie. Sería pues importante poder llevar a cabo un análisis acerca del grado de asociación entre las ACGs de las líneas y el fenotipo de sus híbridos, ya que nos permitiría conocer de manera práctica cuánto de lo expresado en los híbridos se debe a la acción de genes de efecto aditivo, es decir, cuán heredable resulta ser el valor observado para el carácter.

5.5.4. Utilidad de los atributos secundarios del peso de grano para ser considerados en el mejoramiento genético

La aptitud de un atributo secundario para ser incluido en el proceso de mejora requiere de una serie de características, de las cuales sobresalen: (i) presencia de variabilidad genética, (ii) tener valores medio-altos de heredabilidad, y (iii) estar correlacionado genéticamente con el carácter primario que se pretende mejorar (Falconer y Mackay, 1996; Bänziger et al., 2000; Betrán et al., 2003b; Royo et al., 2005; Araus et al., 2008). A esto sería necesario agregar además que el rasgo debe ser medible o estimable en forma rápida y sencilla y que el costo de su medición debe ser relativamente bajo en términos económicos, ya que si estos requisitos no se cumplen, difícilmente sea tenido en cuenta en un programa de mejoramiento. En esta tesis el análisis genético se centró en los tres puntos comentados al inicio, lo que permitió detectar (i) la presencia de variabilidad para todos los caracteres; (ii) la existencia de atributos que se destacaron en sus valores de heredabilidad (MCAG, DFL, TDG, TCP_{PC} , $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$, $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$), superando a la alcanzada por el PG; y (iii) atributos con una importante correlación genética con el PG (MVG, TCG, MCAG, CHMF, $TCP_{PC} \text{ grano}^{-1}$, $CP_{PLLE} \text{ grano}^{-1}$), discriminando además en función de la naturaleza (directa e indirecta) y el modo de acción génica (aditivo y no aditivo) de dichas correlaciones. También existe una manera de determinar el mérito de la selección indirecta respecto de la directa mediante la estimación de un índice que incluye en forma conjunta los últimos dos puntos (heredabilidad y correlación genética) mencionados. El mismo se obtiene como el producto entre la heredabilidad en sentido estricto (h^2) del carácter secundario y su correlación genética aditiva (r_A) con el atributo primario, es decir, $h^2 * r_A$ (Mariotti y Collavino, 2014). Si este producto supera a la h^2 del carácter primario, entonces es posible obtener un progreso genético más rápido vía selección indirecta por el atributo secundario, aconsejándose su uso. Esto mismo se podría utilizar para comparar entre distintos ambientes, es decir, cuán eficiente resultaría llevar adelante el proceso de mejora de un carácter en un ambiente determinado en relación a otro contrastante. Esto último resultaría interesante, ya que en relación a nuestro análisis podría aplicarse para comparar la eficiencia de mejorar el rasgo en ambientes de bajo N respecto de aquellos bien provistos en dicho nutriente.

Bibliografía

- Ahmadzadeh, A., Lee, E.A., Tollenaar, M. 2004. Heterosis for leaf CO₂ exchange rate during the grain-filling period in maize. *Crop Sci.*, 44:2095–2100.
- Akaike, H. 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans. Automat. Contr.*, 19:716–723.
- Alvarez Prado, S., López, C., Lynn Senior, M., Borrás, L. 2014. The genetic architecture of maize (*Zea mays* L.) kernel weight determination. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 4(9):1611–1621.
- Alvarez Prado, S., Gambín, B.L., Novoa, D., Foster, D., Lynn Senior, M., Zinselmeier, C., Otegui, M.E., Borrás, L. 2013a. Correlations between parental inbred lines and derived hybrid performance for grain filling traits in maize. *Crop Sci.*, 53:1636–1645.
- Alvarez Prado, S., López, C., Gambín, B., Abertondo, V., Borrás, L. 2013b. Dissecting the genetic basis of physiological processes determining maize kernel weight using the IBM (B73 × Mo17) Syn 4 population. *Field Crops Res.*, 145:33–43.
- Andrade, F.H., Echarte, L., Rizzalli, R., Della Maggiora, A., Casanovas, M. 2002. Kernel number prediction in maize under nitrogen or water stress. *Crop Sci.*, 42:1173–1179.
- Andrade, F.H., Vega, C., Uhart, S., Cirilo, A., Cantarero, M., Valentinuz, O. 1999. Kernel number determination in maize. *Crop Sci.*, 39:453–459.
- Andrade, F.H., Ferreiro, M. 1996. Reproductive growth of maize, sunflower and soybean at different source levels during grain filling. *Field Crops Res.*, 48:155–165.
- Araus, J.L., Slafer, G.A., Royo, C., Serret, D. 2008. Breeding for yield potential and stress adaptation in cereals. *Critical Reviews in Plant Science*, 27:377–412.
- Araus, J.L., Slafer, G.A., Reynolds, M.P., Royo, C. 2002. Plant breeding and water relations in C₃ cereals: what should we breed for? *Ann. Bot. London*, 89:925–940.
- Austin, D., Lee, M. 1998. Detection of quantitative trait loci for grain yield and yield components in maize across generations in stress and non-stress environments. *Crop Sci.*, 38:1296–1308.
- Badu-Apraku, B., Oyekunle, M., Akinwale, R.O., Lum, A.F. 2011. Combining ability of early-maturing white maize inbreds under stress and non-stress environments. *Agronomy Journal*, 103:544–557.
- Badu-Apraku, B., Akinwale, R.O., Franco, J., Oyekunle, M. 2012. Assessment of reliability of secondary traits in selecting for improved grain yield in drought and low-nitrogen environments. *Crop Sci.*, 52:2050–2062.
- Baenziger, P.S., Russell, W.K., Graef, G.L., Campbell, B.T. 2006. Improving lives: 50 years of crop breeding, genetics, and cytology (C-1). *Crop Sci.*, 46:2230–2244.
- Baker, R.J. 1978. Issues In Diallel Analysis. *Crop Sci.*, 18:533–536.
- Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M., Casanoves, F., Di Rienzo, J.A., Robledo, C.W. 2008. Coeficientes de sendero (path analysis), p. 146. Manual de usuario. Editorial Brujas, Córdoba, Argentina.
- Bänziger, M., Lafitte, H.R. 1997. Breeding tropical maize for low N environments: II. The values of secondary traits for improving selection gains under low N. *Crop Sci.* 37:1110–1117.
- Below, F.E., Cazetta, J.O., Seebauer, J.R. 2000. Carbon/nitrogen interactions during ear and kernel development of maize. Pp. 15–24 en Westgate, M.E., Boote, K.J. (eds.) *Physiology Physiology and Modeling Kernel Set in Maize*. CSSA Special Publication. Madison, WI, USA.

- Bernardo, R. 2002. Breeding for quantitative traits in plants. Stemma Press. Woodbury, MN, USA.
- Betrán, F.J., Beck, D., Bänziger, M., Edmeades, G.O. 2003a. Genetic analysis of inbred and hybrid grain yield under stress and nonstress environments in tropical maize. *Crop Sci.*, 43: 807–817.
- Betrán, F.J., Ribaut, J.M., Beck, D., Gonzalez de León, D. 2003b. Genetic diversity, Specific combining ability, and heterosis in tropical maize under stress and nonsress environments. *Crop Sci.*, 43: 797–806.
- Betrán, F.J., Beck, D., Bänziger, M., Edmeades, G.O. 2003c. Secondary traits in parental inbreds and hybrids under stress and non-stress environments in tropical maize. *Field Crop Res.* 83: 51–65.
- Blum, A. 1988. Plant breeding for stress environments. CRC Press. Boca Raton, FL, USA.
- Bonelli, L.E., Monzón J.P., Cerrudo, A., Rizalli, R.H., Andrade, F.H. 2016. Maize grain yield components and source-sink relationships as affected by the delay in sowing date. *Field Crop Res.*, 198:215–225.
- Borrás, L., Gambín, B.L. 2010. Trait dissection of maize kernel weight: Towards integrating hierarchical scales using a plant growth approach. *Field Crops Res.*, 118:1–12.
- Borrás, L., Zinselmeier, C., Senior, M.L., Westgate, M.E., Muszynski, M.G. 2009. Characterization of grain-filling patterns in diverse maize germplasm. *Crop Sci.*, 49:999–1009.
- Borrás, L., Westgate, M.E. 2006. Predicting maize kernel sink capacity early in development. *Field Crops Res.*, 95:223–233.
- Borrás, L., Slafer, G.A., Otegui, M.E. 2004. Seed dry weight response to source-sink manipulations in wheat, maize and soybean: a quantitative reappraisal. *Field Crops Res.*, 86:131–146.
- Borrás, L., Westgate, M.E., Otegui, M.E. 2003. Control of kernel weight and kernel water relations by post-flowering source-sink ratio in maize. *Ann. Bot. London*, 91:857–867.
- Borrás, L., Curá, J.A., Otegui, M.E. 2002. Maize kernel composition and post-flowering source-sink ratio. *Crop Sci.*, 42(3):781–790.
- Borrás, L., Otegui, M.E. 2001. Maize kernel weight response to post flowering source-sink ratio. *Crop Sci.*, 41:1816–1822.
- Bruce, A.B. 1910. The Mendelian theory of heredity and the augmentation of vigor. *Science*, 32:627–628.
- Capitano, R., Gentinetta, E., Motto, M. 1983. Grain weight and its components in maize inbred lines. *Maydica*, 28:365–379.
- Carter, M.W., Poneleit, C.G. 1973. Black layer maturity and filling period variation among inbred lines of corn. *Crop Sci.* 13:436–439.
- Cardwell, V.B. 1982. Fifty years of Minnesota corn production: Sources of yield increase. *Agron. J.*, 74:984–990.
- Ceccarelli, S., Grando, S. 1996. Drought as a challenge for the plant breeder. *Plant Growth Regul.*, 20:149–155.
- Chapman, S.C., Cooper, M., Podlich, D., Hammer, G. 2003. Evaluating plant breeding strategies by simulating gene action and dryland environment effects. *Agron. J.*, 95:99–113.
- Chapman, S.C., Crossa, J., Edmeades, G.O., 1997. Genotype by environment effects and selection for drought tolerance in tropical maize. I. Two-mode pattern analysis of yield. *Euphytica*, 95:1–9.

- Ciampitti, I.A., Vyn, T.J. 2012. Physiological perspectives of changes over time in maize yield dependency on nitrogen uptake and associated nitrogen efficiencies: A review. *Field Crops Res.*, 133:48–67.
- Ciampitti, I.A., Vyn, T.J. 2011. A comprehensive study of plant density consequences on nitrogen uptake dynamics of maize plants from vegetative to reproductive stages. *Field Crops Res.*, 121:2–18.
- Cirilo, A.G., Andrade, F.H. 1996. Sowing date and kernel weight in maize. *Crop Sci.*, 36:325–331.
- Cirilo, A.G., Andrade, F.H. 1994. Sowing date and maize productivity. I. Crop growth and dry matter partitioning. *Crop Sci.*, 34:1039–1043.
- Connor, D.J., Loomis, R.S., Cassman, K.G. 2011. *Crop ecology. Productivity and management in agricultural systems.* CUP, Cambridge.
- Cooper, M., Van Eeuwijk, F., Hammer, G.L., Podlich, D.W., Messina, C.D. 2009. Modeling QTL for complex traits: detection and context for plant breeding. *Current Opinion in Plant Biol.*, 12:231–240.
- Cooper, M., Smith, O.S., Graham, G., Arthur, L., Feng, L., Podlich, D.W. 2004. Genomics, genetics, and plant breeding: A private sector perspective. *Crop Sci.*, 44:1907–1913.
- Cross, H.Z. 1975. Diallel analysis of duration and rate of grain filling of seven inbred lines of corn. *Crop Sci.*, 15:532–535.
- Crow, J.F. 1998. 90 years ago: The beginning of hybrid maize. *Genetics*, 148:923–928.
- D'Andrea, K.E., Piedra, C.V., Mandolino, C.I., Cirilo, A.G., Otegui, M.E. 2016. Contribution of reserves to kernel weight and grain yield determination in maize: Phenotypic and genotypic variation. *Crop Sci.*, 56:697–706.
- D'Andrea, K.E., Otegui, M.E., Cirilo, A.G., Eyherabide, G. 2013. Parent-progeny relationships between maize inbreds and hybrids: Analysis of grain yield and its determinants for contrasting soil nitrogen conditions. *Crop Sci.*, 53:1–15.
- D'Andrea, K.E., Otegui, M.E., Cirilo, A.G., Eyherabide, G.H. 2009. Ecophysiological traits in maize hybrids and their parental inbred lines: Phenotyping of responses to contrasting nitrogen supply levels. *Field Crops Res.*, 114:147–158.
- D'Andrea, K.E., Otegui, M.E., Cirilo, A.G. 2008. Kernel number determination differs among maize hybrids in response to nitrogen. *Field Crops Res.*, 105:228–239.
- D'Andrea, K.E., Otegui, M.E., Cirilo, A.G., Eyherabide, G.H. 2006. Genotypic variability in morphological and physiological traits among maize inbred lines. I. Response to nitrogen availability. *Crop Sci.*, 46:1266–1276.
- Davenport, C.B. 1908. Degeneration, albinism and inbreeding. *Science*, 28:454–455.
- Daynard, T.B., Tanner, J.W., Duncan, W.G. 1971. Duration of the grain filling period and its relation to grain yield in corn, *Zea mays* L. *Crop Sci.*, 11:45–48.
- Duvick, D.N. 2005. The contribution of breeding to yield advances in maize (*Zea mays* L.). *Adv. Agron.*, 86:83–145.
- Duvick, D.N. 1999. Heterosis: Feeding people and protecting natural resources. Pp. 19–22 en Coors, J.G., Pandey, S. (eds.) *The genetics and exploitation of heterosis in crops.* ASSA/CSSA/SSA. Madison, Wisconsin, USA.
- Duvick, D.N. 1997. What is yield? Pp. 332–335 en Edmeades, G.O., Banziger, M., Mickelson, H.R. Pena-Valdivia, C.B. (eds.) *Developing drought and low N-tolerant maize.* Proceeding of a Symposium, CIMMYT, El Batán, México.
- East, E.M. 1908. Inbreeding in corn, 1907. Pp. 419–428 en *Connecticut Agric. Exp. Stn Rep.*

- Echarte, L., Andrade, F.H., Vega, C.R.C., Tollenaar, M. 2004. Kernel number determination in Argentinean maize hybrids released between 1965 and 1993. *Crop Sci.*, 44:1654–1661.
- Echarte, L., Andrade, F.H. 2003. Harvest index stability of Argentinean maize hybrids released between 1965 and 1993. *Field Crops Res.*, 82:1–12.
- Edmeades, G.O., Bolanos, J., Hernandez, M., Bello, S. 1993. Causes for silk delay in a lowland tropical maize population. *Crop Sci.*, 33:1029–1035.
- Egharevba, P.N., Horrocks, R.D., Zuber, M.S. 1976. Dry matter accumulation in maize in response to defoliation. *Crop Sci.*, 68:40–43.
- Egli, D.B. 2017. *Seed biology and yield of grain crops*, second ed. CAB International, Wallingford, Oxfordshire, UK.
- Egli, D.B. 1990. Seed water relations and the regulation of the duration of seed growth in soybean. *J. Exp. Bot.*, 41:243–248.
- Evans, L.T., Fischer, R.A. 1999. Yield potential: Its definition, measurement, and significance. *Crop Sci.*, 39:1544–1551.
- Falconer, D.S., Mackay, T.F.C. 1996. *Introduction to quantitative genetics*. 4th ed. Pearson Education Limited. Prentice Hall, Essex, England.
- Fan, X.M., Chen, H.M., Tan, J., Xu, C.X., Zhang, T.D., Luo, L.M., Huang, Y.X., Kang, M.S. 2008. Combining abilities for yield and yield components in maize. *Maydica*, 53:39–46.
- Fischer, R.A., Connor, D.J. 2018. Issues for cropping and agricultural science in the next 20 years. *Field Crops Res.*, 222:121–142.
- Gambín, B.L., Borrás, L. 2010. Resource distribution and the trade-off between seed number and seed weight: A comparison across crop species. *Ann. Appl. Biol.*, 156:91–102.
- Gambín, B.L., Borrás, L., Otegui, M.E. 2008. Kernel weight dependence upon plant growth at different grain-filling stages in maize and sorghum. *Australian J. of Agr. Res.* 59:280–290.
- Gambín, B.L., Borrás, L., Otegui, M.E. 2007. Kernel water relations and duration of grain filling in maize temperate hybrids. *Field Crops Res.*, 101:1–9.
- Gambín, B., Borrás, L., Otegui, M. 2006. Source-sink relations and kernel weight differences in maize temperate hybrids. *Field Crops Res.*, 95:316–326.
- Gamble, E.E. 1962. Gene effects in corn (*Zea mays* L.) I. Separation and relative importance of gene effects for yield. *Can. J. Plant Sci.*, 16:807–811.
- Grassini, P., Eskridge, K., Cassman, K. 2013. Distinguishing between yield advances and yield plateaus in historical crop production trends. *Nature Communications*, 4:2918.
- Griffing, B. 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Aust. J. of Biol. Sci.*, 9:463–493.
- Hallauer, A.P., Lamkey, K.R., Russell, W.A., White, P.R. 1995. Registration of B99 and B100 inbred lines of maize. *Crop Sci.*, 35:1714–1715.
- Hallauer, A.R., Miranda, J.B. 1988. *Quantitative genetics in maize breeding*, 2nd Ed. The Iowa State Univ. Press. Ames, IA, USA.
- Hayman, B.I. 1954. The theory and analysis of diallel crosses. *Genetics*, 39(6):789–809.
- He, P., Osaki, M., Takebe, M., Shinano, T., Wasaki, J. 2005. Endogenous hormones and expression of senescence-related genes in different senescent types of maize. *J. Exp. Bot.* 56, 1117–1128.
- Holland, J.B., Nyquist, W.E., Cervantez-Martinez, C.T. 2003. Estimating and interpreting heritability for plant breeding: An update. Pp. 9–112 en Janick, J. (ed.) *Plant breeding. Rev. vol. 22*. John Wiley & Sons, Hoboken, NJ.

- Holland, J.B., Uhr, D.V., Jeffers, D., Goodman, M.M. 1998. Inheritance of resistance to southern corn rust in tropical by corn-belt maize populations. *Theor. Appl. Genet.*, 96:232–241.
- Hoffmann, A.A., Parsons, P.A. 1991. *Evolutionary genetics and environmental stress*. Oxford Univ. Press. New York, USA.
- IPCC. 2014. Magrin, G.O., Marengo, J.A., Boulanger, J.P., Buckeridge, M.S., Castellanos, E., Poveda, G., Scarano, F.R., Vicuña, S. Central and South America. *Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part B: Regional Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Pp. 1499–1566 en Barros, V.R., Field, C.B., Dokken, D.J., Mastrandrea, M.D., Mach, K.J., Bilir, T.E., Chatterjee, M., Ebi, K.L., Estrada, Y.O., Genova, R.C., Girma, B., Kissel, E.S., Levy, A.N., MacCracken, S., Mastrandrea, P.R., White, L.L. (eds.) Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, USA.
- Jackson, P., Robertson, M., Cooper, M., Hammer, G. 1996. The role of physiological understanding in plant breeding; from a breeding perspective. *Field Crop Res.*, 49:11–37.
- Jacobs, B.C., Pearson, C.J. 1992. Pre-flowering growth and development of the inflorescences of maize II. Accumulation and partitioning of dry matter and nitrogen by inflorescences. *J. Exp. Bot.*, 43:565–569.
- Jacobs, B.C., Pearson, C.J. 1991. Potential yield of maize, determined by rates of growth and development of ears. *Field Crops Res.*, 27:281–298.
- Jones, R.J., Schreiber, B.M.N., Roessler, J.A. 1996. Kernel sink capacity in maize: Genotypic and maternal regulation. *Crop Sci.*, 36:301–306.
- Jones, R.J., Simmons, S.R. 1983. Effect of altered source-sink ratio on growth of maize kernels. *Crop Sci.*, 23:129–134.
- Josue, A.D., Brewbaker, J.L. 2018. Diallel analysis of grain filling rate and grain filling period in tropical maize (*Zea mays* L.). *Euphytica*, 214:39.
- Katsantonis, N., Gagianas, A., Sfakianakis, J., Fotiadis, N. 1986. Inheritance of duration and rate of grain filling and their relationship to grain yield in maize. *Plant Breed.*, 96:115–121.
- Keeble, F., Pellew, C. 1910. The mode of inheritance of stature and of time of flowering in peas (*Pisum sativum*). *J. Genet.*, 1:47–56.
- Kiniry, J.R., Otegui, M.E. 2000. Processes affecting maize grain yield potential in temperate conditions. Pp. 31–46 en Otegui, M.E., Slafer, G.A. (eds.). *Physiological Bases for Maize Improvement*. Food Products Press, The Haworth Press, New York, USA.
- Kiniry, J.R., Tischler, C.R., Rosenthal, W.D., Gerik, T.J. 1992. Nonstructural carbohydrate utilization by sorghum and maize shaded during grain growth. *Crop Sci.*, 32:131–137.
- Kiniry, J.R., Wood, C.A., Spanel, D.A., Bockholt, A.J. 1990. Seed weight response to decreased seed number in maize. *Agron. J.*, 54:98–102.
- Kroonenberg, P.M. 1997. Introduction to biplots for G×E tables. Research Report 51 Centre for Statistics, The University of Queensland, Brisbane, QLD, Australia.
- Lafitte, H.R., Edmeades, G.O., Taba, S. 1997. Adaptive strategies identified among tropical maize landraces nitrogen-limited environments. *Field Crops Res.*, 49:187–204.
- Lafitte, H.R., Edmeades, G.O. 1994. Improvement for tolerance to low soil nitrogen in tropical maize I. Selection criteria. *Field Crops Res.*, 39:1–14.
- Lee, E.A., Ahmadzadeh, A., Tollenaar, M. 2005. Quantitative genetic analysis of the

- physiological processes underlying maize grain yield. *Crop Sci.*, 45:981–987.
- Lemaire, G., Van Oosterom, E., Jeuffroy, M.H., Gastal, F., Massignan, A. 2008. Crop species present different qualitative types of response to N deficiency during their vegetative growth. *Field Crops Res.*, 105:253–265.
- Lemcoff, J.H., Loomis, R.S. 1986. Nitrogen influences on yield determination in maize. *Crop Sci.*, 26:1017–1022.
- Li, Y., Yang, M., Dong, Y., Wang, Q., Zhou, Q., Shen, B., Zhang, F., Liang, X. 2012. Three main genetic regions for grain development revealed through QTL detection and meta-analysis in maize. *Mol. Breed.*, 30:195–211.
- Liu, Z.H., Ji, H.Q., Cui, Z.T., Wu, X., Duan, L.J., Feng, X.X., Tang, J.H. 2011. QTL detected for grain filling rate in maize using a RIL population. *Mol. Breed.*, 27:25–36.
- Liu, W., Tollenaar, M. 2009a. Physiological mechanisms underlying heterosis for shade tolerance in maize. *Crop Sci.*, 49:1817–1826.
- Liu, W., Tollenaar, M. 2009b. Response of yield heterosis to increasing plant density in maize. *Crop Sci.*, 49:1807–1816.
- Luque, S.L., Cirilo, A.G., Otegui, M.E. 2006. Genetic gains in grain yield and relates physiological attribute in Argentine maize Hybrids. *Field Crops Res.*, 95:383–397.
- Maddoni, G.A., Otegui, M.E., Bonhomme, R. 1998. Grain yield components in maize II. Postsilking crop growth and kernel weight. *Field Crops Res.*, 56:257–264.
- Makumbi, D., Betrán, F.J., Bänziger, M., Ribaut, J.M. 2011. Combining ability, heterosis and genetic diversity in tropical maize (*Zea mays* L.) under stress and non-stress conditions. *Euphytica* 180:143–162.
- Mandolino, C.I., D'Andrea, K.E., Piedra, C.V., Alvarez Prado, S., Olmos, S., Cirilo, A.G., Otegui, M.E. 2006. Kernel weight in maize: genetic control of its physiological and compositional determinants in a dent × flint-caribbean RIL population. *Maydica*, 61(4).
- Mariotti, J.A., Collavino, N.G. 2014. Los caracteres cuantitativos en la mejora genética de los cultivos. Orientación gráfica editora. Buenos Aires, Argentina.
- Mason, L., Zuber, M.S. 1976. Diallele analysis of maize for leaf angle, leaf area, yield, and yield components. *Crop Sci.*, 16:693–696.
- Matzinger, D.F., Sprague, G.F., Cockerham, C.C. 1959. Diallel cross of maize in experiments repeated over locations and years. *Agron. J.*, 51:346–350.
- Melchinger, A.E. 1999. Genetic diversity and heterosis. Pp. 99–118 en Coors, J.G., Pandey, S. (eds.) *The genetics and exploitation of heterosis in crops*. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America, Madison, USA.
- Melchinger, A.E., Lee, M., Lamkey, K.R., Woodman, W.L.. 1990. Genetic diversity for restriction fragment length polymorphisms: Relation to estimated genetic effects in maize inbreds. *Crop Sci.*, 30:1033–1040.
- Melchiori, R.J.M., Caviglia, O.P. 2008. Maize kernel growth and kernel water relations as affected by nitrogen supply. *Field Crops Res.*, 108:198–205.
- Melgar, R.J., Smyth, T.J., Sanchez, P.A., Cravo, M.S. 1992. Fertilizer nitrogen movement in a Central Amazon Oxisol and Entisol cropped to corn. *Fertilizer Res.*, 31:241–252.
- Millet, E., Pinthus, M.J. 1984. The association between grain volume and grain weight in wheat. *Journal of Cereal Sci.*, 2:31–35.
- Monneveux, P., Zaidi, P.H., Sanchez, C. 2005. Population density an low nitrogen affects yield-associated traits in tropical maize. *Crop Sci.*, 45:535–545.

- Munaro, E.M., D'Andrea, K.E., Eyherabide, G.H., Otegui, M.E. 2013. Análisis genético de la respuesta de los caracteres ecofisiológicos determinantes del rendimiento en grano a la disponibilidad de nitrógeno en maíz (*Zea mays* L.). Tesis de doctorado. Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.
- Munaro, E.M., D'Andrea, K.E., Otegui, M.E., Cirilo, A.G., Eyherabide, G.H. 2011a. Heterotic response for grain yield and ecophysiological related traits to nitrogen availability in maize. *Crop Sci.*, 51:1172–1187.
- Munaro, E.M., Eyherabide, G.H., D'Andrea, K.E., Cirilo, A.G., Otegui, M.E. 2011b. Heterosis × environment interaction in maize: What drives heterosis for grain yield? *Field Crops Res.*, 124:441–449.
- Muchow, R.C. 1990. Effect of high temperature on grain-growth in field-grown maize. *Field Crops Res.*, 23:145–158.
- Muchow, R.C. 1988. Effect of nitrogen supply on the comparative productivity of maize and sorghum in a semi-arid tropical environment. I. Leaf growth and leaf nitrogen. *Field Crops Res.*, 18:1–16.
- Otegui, M.E. 1995. Prolificacy and grain yield components in modern argentinian maize hybrids. *Maydica*, 40:371–376.
- Otegui, M.E., Andrade, F.H. 2000. New relationships between light interception, ear growth and kernel set in maize. Pp 89–102 en Wetsgate, M., Boote, K. (eds.) *Physiology and modeling kernel set in maize*. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America, Madison, USA.
- Ouattar, S., Jones, R.J., Crookston, R.K. 1987a. Effect of water deficit during grain filling on the pattern of maize kernel growth and development. *Crop Sci.*, 27:726–730.
- Ouattar, S., Jones, J.R., Crookston, R.K., Kajeiou, M. 1987b. Effect of drought on water relations of developing maize kernels. *Crop Sci.*, 27:730–735.
- Peng, B., Li, Y., Wang, Y., Cheng, L., Liu, Z. 2011. QTL analysis for yield components and kernel-related traits in maize across multi-environments. *Theor. Appl. Genet.*, 7:1305–1320.
- Poneleit, C.G., Egli, D.B. 1983. Differences between reciprocal crosses of maize for kernel growth characteristics. *Crop Sci.*, 23:871–875.
- Poneleit, C.G., Egli, D.B. 1979. Kernel growth rate and duration in maize as affected by plant density and genotype. *Crop Sci.*, 19:385–388.
- R Core Development Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Radushev, D. 2007. Graph Pad Prism version 5.0. Graph Pad Software, Inc. San Diego, CA, USA.
- Rajcan, I., Tollenaar, M. 1999. Source:sink ratio and leaf senescence in maize II. Nitrogen metabolism during grain filling. *Field Crops Res.*, 60:255–265.
- Rattalino Edreira, J.I., Mayer, J.I., Otegui, M.E. 2014. Heat stress in temperate and tropical maize hybrids: Kernel growth, water relations and assimilate availability for grain filling. *Field Crops Res.*, 166:162–172.
- Rattalino Edreira, J.I., Otegui, M.E. 2013. Heat stress in temperate and tropical maize hybrids: a novel approach for assessing sources of kernel loss in field conditions. *Field Crops Res.* 142:58–67.
- Reddy, V.M., Daynard, T.B. 1983. Endosperm characteristics associated with rate of grain filling and kernel size in corn. *Maydica*, 28:339–355.

- Richards, R.A. 1996. Defining selection criteria to improve yield under drought. *Plant Growth Regul.*, 20:157–166.
- Ritchie, S.W., Hanway, J.J. 1992. How a plant crop develops. Spec. Rep., 48. Iowa State University of Science and Technology. Coop. Ext. Serv. Ames, Iowa, USA.
- Ritchie, J.T., NeSmith, D.S. 1991. Temperature and crop development. Pp. 5–29 en Hanks, J., Ritchie, J.T. (eds.) *Modelling Plant and Soil Systems*, Agronomy Series 31. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI, USA.
- Rojas, B.A., Sprague, G.F. 1952. A comparison of variance components in corn yield trials: III. General and Specific combining ability and their interaction with locations and years. *Agron. J.*, 44:462–466.
- Rosielle, A.A., Hamblin, J. 1981. Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress environments. *Crop Sci.*, 21:943–946.
- Royo, C., Nachit, M.M., Di Fonzo, N., Araus, J.L., Pfeiffer, W.H., Slafer, G.A. 2005. Durum wheat breeding: Current approaches and future strategies, vol. 1. Food Products Press, Binghamton, NY, USA.
- Ruiz, M.B., D’Andrea, K.E., Otegui, M.E. 2019. Phenotypic plasticity of maize grain yield and related secondary traits: Differences between inbreds and hybrids in response to contrasting water and nitrogen regimes. *Field Crops Res.* 239:19–29.
- Russell, W.A. 1974. Comparative performance for maize hybrids representing different eras of maize breeding. Pp. 81–101. *Proceedings of the 29th Annual Corn and Sorghum Industry Research Conference*. Chicago, IL, USA.
- Sadras, V.O., Slafer, G.A. 2012. Environmental modulation of yield components in cereals: Heritabilities reveal a hierarchy of phenotypic plasticities. *Field Crops Res.*, 127:215–224.
- Sadras, V.O. 2007. Evolutionary aspects of the trade-off between seed size and number in crops. *Field Crops Res.*, 100:125–138.
- Saini, H.S., Westgate, M.E. 2000. Reproductive development in grain crops during drought. *Adv. Agron.*, 68:59–96.
- Sala, R.G., Andrade, F.H., Westgate, M.E. 2007a. Maize kernel moisture at physiological maturity as affected by the source–sink relationship during grain filling. *Crop Sci.*, 47:711–714.
- Sala, R.G., Westgate, M.E., Andrade, F.H. 2007b. Source/sink ratio and the relationship between maximum water content, maximum volume, and final dry weight of maize kernels. *Field Crop Res.*, 101:19–25.
- SAS Institute. 2013. SAS 9.4 user’s guide. SAS Institute, Cary, NC.
- Severini, A.D., Borrás, L., Westgate, M.E., Cirilo, A.G. 2011. Kernel number and kernel weight determination in dent and popcorn maize. *Field Crops Res.*, 120:360–369.
- Shaw, R.H., Loomis, W.E. 1950. Bases for the prediction of corn yields. *Plant Physiol.*, 25:225–244.
- Shull, G.H. 1952. Beginnings of the heterosis concept. Pp. 14–48 en Gowen, J.W. (ed.) *Heterosis: A record of researches directed toward explaining and utilizing the vigor of hybrids*. Iowa State College Press, Ames, USA.
- Shull, G.H. 1909. A pure line method of corn breeding. *Am. Breeder’s Assoc. Rep.*, 5:51–59.
- Shull, G.H. 1908. The composition of a field of maize. *Am. Breed. Assoc. Rep.*, 4:296–301.
- Sinclair, T.R., Jamieson, P.D. 2006. Grain number, wheat yield, and bottling beer: An analysis. *Field Crops Res.* 98:60–67.

- Sinha, S.K., Khanna, R. 1975. Physiological, biochemical, and genetic basis of heterosis. *Adv. Agron.*, 27:123–174.
- Smith, J.S.C., Smith, O.S., Bowen, S.L., Tenborg, R.A., Wall, S.J. 1991. The description and assessment of distances between inbred lines of maize. III. A revised scheme for the testing of distinctiveness between inbred lines utilizing DNA RFLPs. *Maydica*, 36:213–226.
- Smith, C.C., Fretwell, S.D. 1974. The optimal balance between size and number of offspring. *The American Naturalist*, 108:499–506.
- Soleri, D., Smith, S.E. 2002. Rapid estimation of broad sense heritability of farmer-managed maize populations in the Central Valleys of Oaxaca, Mexico, and implications for improvement. *Euphytica*, 128:105–119.
- Sprague, G.F., Tatum, L.A. 1942. General and specific combining ability in a single cross of corn. *J. Am. Soc. Agron.*, 34:923–932.
- Springer, N.M., Stupar, R.M. 2007. Allelic variation and heterosis in maize: how do two halves make more than a whole?. *Genome Res.*, 17:264–275.
- Tamagno, S., Greco, I.A., Almeida, H., Di Paola, J.C., Martí Ribes, F., Borrás, L. 2016. Crop management options for maximizing maize kernel hardness. *Agron. J.*, 108:1–10.
- Tamagno, S., Greco, I.A., Almeida, H., Borrás, L. 2015. Physiological differences in yield related traits between flint and dent Argentinean commercial maize genotypes. *Eur. J. Agron.*, 68:50–56.
- Tilman, D., Cassman, K.G., Matson, P.A., Naylor, R., Polasky, S. 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418:671–677.
- Tollenaar, M., Lee, E.A. 2006. Dissection of physiological processes underlying grain yield in maize by examining genetic improvement and heterosis. *Maydica*, 51:399–408.
- Tollenaar, M., Ahmadzadeh, A., Lee, E.A. 2004. Physiological basis of heterosis for grain yield in maize. *Crop Sci.*, 44:2086–2094.
- Tollenaar, M., Lee, E.A. 2002. Yield potential, yield stability and stress tolerance in maize. *Field Crop Res.*, 75:161–169.
- Tollenaar, M., Dwyer, L.M., Stewart, D.W. 1992. Ear and kernel formation in maize hybrids representing three decades of grain yield improvement in Ontario. *Crop Sci.*, 32:432–438.
- Tollenaar, M. 1991. Physiological basis of genetic improvement of maize hybrids in Ontario from 1959 to 1988. *Crop Sci.*, 31:119–124.
- Triboi, E., Triboi-Blondel, A.M. 2002. Productivity and grain or seed composition: A new approach to an old problem. *Eur. J. Agron.*, 16:163–186.
- Uhart, S.A., Andrade, F.H. 1995a. Nitrogen and carbon accumulation and remobilization during grain filling in maize under different source/sink ratios. *Crop Sci.*, 35:183–190.
- Uhart, S.A., Andrade, F.H. 1995b. Nitrogen deficiency in maize: I. Effects on crop growth, development, dry matter partitioning, and kernel set. *Crop Sci.*, 35:1376–1383.
- Vasal, S.K., Cordova, H., Beck, D.L., Edmeades, G.O. 1997. Choices among breeding procedures and strategies for developing stress tolerant maize germplasm. Pp. 336–347 en Edmeades, G.O. (ed.) *Developing drought and low N-tolerant maize*. CIMMYT, Yield, Mexico.
- Vega, C.R.C., Sadras, V.O., Andrade, F.H., Uhart, S.A. 2000. Reproductive allometry in soybean, maize and sunflower. *Ann. Bot.*, 85:461–468.

- Wang, G., Kang, M.S., Moreno, O. 1999. Genetic analyses of grain-filling rate and duration in maize. *Field Crops Res.*, 61:211–222.
- Westgate, M.E. 1994. Water status and development of maize endosperm and embryo during drought. *Crop Sci.*, 34:76–83.
- Wilhelm, E.P., Mullen, R.E., Keeling, P.L., Singletary, G.W. 1999. Heat stress during grain filling in maize: Effects on kernel growth and metabolism. *Crop Sci.*, 39:1733–1749.
- Worku, M., Bänziger, M., Friesen, D., Erley, G., Horst, W.J., Vivek, B.S. 2008. Relative importance of general combining ability and specific combining among tropical maize inbreds under contrasting nitrogen environments. *Maydica*, 53:279–288.
- Yao, W.H., Zhang, Y.D., Kang, M.S., Chen, H.M., Liu, L., Yu, L.J., Fan, X.M. 2013. Diallel analysis models: A comparison of certain genetic statistics. *Crop Sci.*, 53:1481–1490.
- Zaidi, P.H., Selvan, P.M., Sultana, P. 2007. Association between line per se and hybrid performance under excessive soil moisture stress in tropical maize (*Zea mays* L.). *Field Crops Res.*, 101:117–126.
- Zaidi, P.H., Srinivasan, G., Sanchez, C. 2003. Relationship between line per se and cross performance under low nitrogen fertility in tropical maize (*Zea mays* L.). *Maydica*, 48:221–231.
- Zhang, Y., Kang, M., Lamkey, S., Kendall, R. 2005. DIALLEL-SAS05: A comprehensive program for Griffing's and Gardner-Eberhart analyses. *Agron. J.*, 97:1097–1106.
- Zhang, Y., Kang, M. 1997. DIALLEL-SAS: A SAS program for Griffing's diallel analyses. *Agron. J.*, 89:176–182.