

# **Análisis de las interacciones aptitud combinatoria × ambiente mediante modelos multivariados en híbridos de maíz de distinto tipo de grano**

*Tesis para optar al título de Especialista en Mejoramiento Genético Vegetal*

**Ignacio R. Hisse**  
Ingeniero Agrónomo  
Universidad de Buenos Aires  
2023

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**

Tutor

**Abelardo de la Vega**

Ingeniero Agrónoma (Universidad de Buenos Aires)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

# ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT .....	2
1. Introducción.....	3
2. Materiales y métodos .....	4
2.1. <i>Material genético</i> .....	4
2.2. <i>Manejo del cultivo y diseño experimental</i> .....	5
2.3. <i>Mediciones</i> .....	6
2.4. <i>Análisis estadístico</i> .....	6
3. Resultados .....	7
3.1. <i>Caracterización fenotípica y ambiental</i> .....	7
3.2. <i>Variabilidad genética y efectos genéticos</i> .....	10
3.3. <i>Aptitud combinatoria de las líneas</i> .....	12
3.4. <i>Interacción aptitud combinatoria x ambiente</i> .....	16
4. Discusión .....	19
4.1. <i>Aptitud combinatoria e interacción con el ambiente para rendimiento y concentración de proteína en grano</i> .....	20
4.2. <i>Aptitud combinatoria de las líneas y su relación con el tipo de germoplasma evaluado</i> .....	21
5. Conclusiones .....	22
Referencias .....	23

## **Análisis de las interacciones aptitud combinatoria x ambiente en híbridos de maíz de distinto tipo de grano mediante modelos multivariados**

### **RESUMEN**

El análisis de las interacciones genotipo x ambiente (GxE) constituye una herramienta de gran utilidad para analizar los patrones de adaptación (amplia o específica) de los genotipos para los ambientes evaluados. No obstante, poco se indaga sobre los mecanismos genéticos responsables de las interacciones GxE a partir del análisis de las interacciones de los distintos efectos genéticos con el ambiente (i.e. interacción aptitud combinatoria x ambiente). En esta tesis se evaluó, para rendimiento en grano por planta (RGP) y concentración de proteína en grano (CPG), la aptitud combinatoria general (ACG) y específica (ACE) promedio, y su interacción con los componentes del ambiente conformados por niveles de nitrógeno contrastantes y distintas estaciones de crecimiento (variabilidad interanual). Seis líneas endocriadas de distinto germoplasma (flint, semiflint, dentado) y sus 30 híbridos simples derivados se evaluaron utilizando un diseño de cruzamientos dialélico bajo dos niveles de N (N0: control; N1: fertilizado con 200 ó 400 kg N ha<sup>-1</sup>) y durante seis campañas (A; 2002/03, 2003/04, 2004/05, 2008/09, 2014/15, 2015/16). La varianza genotípica (G) fue más importante que la de GxE, representando ~70% de la variabilidad total G+GxE. La ACG promedio superó a la ACE tanto para RGP (37% vs. 22% de la variabilidad total G+GxE) como CPG (51% vs. 14% de la variabilidad total G+GxE). Además, se observó la presencia de interacción aptitud combinatoria x ambiente, destacándose la ACGxA para ambos caracteres, y la ACExN para RGP. Estos patrones de respuesta diferenciales de los efectos genéticos en su interacción con el ambiente contribuyen a un mejor entendimiento de las interacciones GxE, aumentando la eficiencia del proceso de selección. Entre los valores de ACG de las líneas, se destacó el correspondiente al parental dentado B100 para RGP, y el de la línea flint LP611 para CPG. Todas las combinaciones de B100 con las líneas flint exhibieron valores altos de ACE para RGP, pero algunas resultaron más altas dependiendo del nivel de N, lo que sugiere que conforme al ambiente objetivo de la selección (potencial o restrictivo en oferta de N) variará la elección del parental más conveniente para combinarse con B100. Tanto el híbrido de mayor RGP como el de mayor CPG incluyeron a la línea LP662 como uno de sus parentales, la cual exhibió, en promedio, un buen comportamiento a la hora de combinarse con el resto de las líneas para ambos caracteres. Esto evidencia la factibilidad en la mejora conjunta del RGP y CPG, los cuales usualmente exhiben un efecto compensatorio (*trade off*) entre sí.

**Palabras clave:** *Zea mays* (L.), rendimiento en grano, contenido de proteína, habilidad combinatoria, nitrógeno, análisis dialélico, aptitud combinatoria x ambiente

## ABSTRACT

Genotype  $\times$  environment interaction ( $G \times E$ ) analysis allows evaluating adaptation patterns (broad or specific) of the genotypes across evaluated environments. However, the genetic mechanisms responsible for the  $G \times E$  interactions evaluated from the analysis of genetic effects by environment interactions (i.e., combining ability  $\times$  environment) have received less attention. In the current study, general (GCA) and specific (SCA) combining ability across environments and their interactions with the environment conformed by different growing seasons and soil nitrogen supply were evaluated for plant grain yield (PGY) and grain protein concentration (GPC). Six inbred lines of different germplasm (flint, semiflint, dent) and their 30 single cross hybrids were evaluated from a diallel analysis under two N levels (N0: control; N1: fertilized with 200 or 400 kg N ha<sup>-1</sup>) and during six years (Y; 2002/03, 2003/04, 2004/05, 2008/09, 2014/15, 2015/16). Genetic variance (G) was more important than  $G \times E$  variance, representing  $\sim 70\%$  of the  $G + G \times E$  variability. The GCA exceeded the SCA for PGY (37% vs. 22% of the  $G + G \times E$  variability) and GPC (51% vs. 14% of  $G + G \times E$  variability). However, combining ability  $\times$  E interaction was observed, mostly because of the presence of GCA  $\times$  Y interaction in both traits, and SCA  $\times$  N in PGY. These differences between genetic effects in their interactions responses with environmental components would improve the understanding of the  $G \times E$  interactions, contributing to increasing the efficiency of the selection process. Among the GCA of the parental lines, the dent B100 and the flint LP611 had the highest value for PGY and GPC, respectively. Crossing of B100 with flint lines exhibited high SCA for PGY but they varied with N level, suggesting that the most suitable parent to be combined with B100 will depend upon the target environment (i.e. potential or restrictive in N supply). The superior hybrid for PGY (B100 $\times$ LP662) and GPC (LP611 $\times$ LP662) included LP662 as one of its parents, and this line exhibited, on average, good behavior when combined with the rest of the lines for both evaluated traits. This evidence the feasibility of joint improvement of the RGP and GPC, which usually exhibit a trade-off between them.

**Keywords:** *Zea mays* (L.), grain yield, kernel protein content, combining ability  $\times$  environment, nitrogen availability, diallel mating design, kernel type.

## 1. Introducción

En maíz (*Zea mays* L.), el principal objetivo del mejoramiento genético consiste en identificar y reproducir híbridos superiores en rendimiento en grano (RG) y estabilidad para un ambiente objetivo (Bernardo, 2002). Genotipos de distinto tipo de grano difieren fuertemente tanto en RG como en su respuesta a los cambios en el ambiente explorado. Esto resulta evidente cuando se compara materiales de tipo flint con dentados, con una superioridad de los dentados para RG, producto de un mayor número y peso de los granos (Tamagno et al., 2015; Hisse et al., 2021). La concentración de proteína en grano (CPG) también varía con el genotipo considerado, destacándose los niveles comúnmente observados en los materiales flint (Tamagno et al., 2016). No obstante, las diferencias genotípicas mencionadas tanto para RG como CPG varían con las condiciones ambientales exploradas, observándose presencia de interacciones genotipo por ambiente (G×E). Así, el RG de los genotipos dentados o semidentados suele exhibir una mayor respuesta (i.e. sensibilidad) en comparación con los flint frente a cambios en la oferta de nitrógeno (N) (Tamagno et al., 2016), como así también en el ambiente fototermal explorado durante el crecimiento de los granos (Hisse et al., 2021). La disponibilidad de N también afecta la CPG, observándose un incremento con el aumento en la oferta de N (Below, 2002; Uribe Larrea et al., 2009; Tamagno et al., 2016). Hasta el momento, los estudios referidos al análisis de las interacciones G×E del RG y CPG sobre materiales de distinto tipo de grano se limitaron a estudiar los mecanismos fisiológicos subyacentes de dichas respuestas, sin indagar en los mecanismos genéticos responsables de las interacciones G×E observadas a partir de las interacciones de los distintos efectos génicos con el ambiente.

El análisis de las combinaciones de líneas parentales para producir híbridos superiores mediante el diseño de cruzamientos dialélico constituye una herramienta para mejoradores interesados en evaluar la aptitud combinatoria de las líneas endocriadas (Griffing, 1956). El análisis dialélico permite cuantificar la magnitud de los efectos genéticos, 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. Las magnitudes de los efectos de ACG y ACE, estimados a partir de datos fenotípicos, no son constantes a través de ambientes (Rojas y Sprague, 1952; Matzinger et al., 1959), y a su vez varían con el tipo de estrés considerado. Así, para RG, los efectos de ACG resultan más importantes bajo restricción hídrica (Betrán et al., 1997; Makumbi et al., 2011), mientras que los efectos de ACE se incrementan en ausencia de

restricciones abióticas (Betrán et al., 2003a; 2003b). Es por ello que resulta relevante evaluar las magnitudes de las interacciones aptitud combinatoria x ambiente, discriminando, a su vez, entre los factores del ambiente predecibles como en el caso de la oferta de N, y aquellos no predecibles dados por variación interanual.

Los análisis multivariados basados en modelos multiplicativos usados usualmente para analizar las interacciones GxE como en el caso del *biplot* (Gabriel, 1971) pueden ser utilizados en análisis dialélicos con el fin de caracterizar gráficamente los patrones de asociación entre las líneas (Yan y Hunt, 2002; Narro et al., 2003; de la Vega y Chapman, 2006). Así, Yan y Hunt (2002) propusieron el análisis mediante el *biplot* de GGE (efecto del genotipo y de interacción con el ambiente) para caracterizar la ACG de las líneas (efectos principales) y la ACE de los cruzamientos (efectos de interacción). Luego, Narro et al. (2003) propusieron el uso del modelo *biplot* de AMMI2 para una visualización más precisa de los efectos de ACE. Así, el *biplot* de AMMI2 incluye los dos componentes multiplicativos, lo que permite una mejor caracterización de las ACEs. Ambos modelos propuestos caracterizan las aptitudes combinatorias promedio a lo largo de los ambientes evaluados. No obstante, también resulta de gran interés conocer las interacciones aptitud combinatoria x ambiente a partir del análisis gráfico (de la Vega y Chapman, 2006). Esto permitirá detectar patrones de adaptación amplia o específica de las líneas para los ambientes evaluados, y así determinar su potencialidad para ser incluidas en un programa. Los objetivos de la presente tesis son: evaluar para RGP y CPG (i) la magnitud de los efectos genéticos de ACG y ACE promedio de todos los ambientes; (ii) las aptitudes combinatorias de las líneas endocriadas evaluadas; y (iii) las interacciones ACG y ACE con el ambiente, discriminando, a su vez, entre aquellas debidas al año y al nivel de oferta de N.

## **2. Materiales y métodos**

### *2.1. Material genético*

El material genético usado incluyó un total de 36 genotipos de maíz: seis líneas endocriadas y sus 30 híbridos simples derivados. De las líneas, una es pública americana dentada y pertenece al grupo heterótico *Reid Yellow Dent* (B100; Hallauer et al., 1995), y las cinco restantes fueron desarrolladas por el programa de mejoramiento de maíz del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Pergamino, de las cuales una es semiflinto (LP2) y cuatro son flintos (LP561, LP611, LP662 y ZN6), y pertenecen al grupo heterótico Cristalino Colorado (Eyhéabide et al., 2006). Las líneas usadas difieren en su época de mejoramiento, origen, características del canopeo, y rendimiento y

sus componentes (Cuadro 1; D'Andrea et al., 2006). Los híbridos se originaron a partir del cruzamiento entre todas las combinaciones posibles (i.e. directo y recíproco) de las seis líneas endocriadas mencionadas, obteniéndose 10 híbridos dentado×flint (D×F; cruzamientos de B100 con las demás líneas), ocho semiflint×flint (SF×F; cruzamientos de LP2 con las líneas flints), y 12 flint×flint (F×F; cruzamientos entre LP561, LP611, LP662 y ZN6) (Cuadro 2).

**Cuadro 1.** Descripción de las líneas endocriadas evaluadas.

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 semiflint	A partir de líneas caribeñas × sintética dura argentina.	INTA Pergamino

## 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 seis años (Cuadro 3). El material genético usado incluyó todos los genotipos en los años 2008/09, 2013/14, y 2014/15 (seis líneas y 30 híbridos), pero la mitad en los años 2002/03, 2003/04 y 2004/5 (seis líneas y 12 híbridos). Los tratamientos de N incluyeron un control (N0) sin aplicación de N, y una condición de alto N (N1) fertilizado con 400 (2002/03, 2003/04 y 2004/5) y 200 kg N ha<sup>-1</sup> (2008/09, 2013/14, y 2014/15), suministrados como urea en dos aplicaciones iguales, a la siembra y en el estadio de 9 hojas liguladas (V<sub>9</sub>; Ritchie et al., 1992). Como resultado de la combinación de seis años y dos niveles de N, los genotipos se evaluaron en un total de 12 ambientes (Cuadro 3).

Se empleó un diseño experimental de parcelas sub-divididas con tres repeticiones (bloques), con la condición de N en la parcela principal, el grupo genotípico (i.e. línea e híbrido) en la subparcela, y los genotipos individuales en

la sub-subparcela (de aquí en adelante denominadas parcelas). Cada parcela tuvo tres hileras, distanciadas entre sí a 0,7 m y con una longitud de 5,5 m. La densidad fue siempre de 7 plantas m<sup>-2</sup>. 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.

### 2.3. Mediciones

Las plantas de la hilera central de cada parcela se cosecharon en madurez fisiológica (R<sub>6</sub>; capa negra visible en los granos del centro de la espiga) para la obtención del rendimiento en grano por planta (RGP, en g planta<sup>-1</sup>), luego de secar las espigas en estufa a 70°C hasta peso constante. La concentración de proteína en grano (CPG, en %) a cosecha se obtuvo mediante un análisis de espectroscopia del infrarrojo cercano (NIR).

### 2.4. Análisis estadístico

Se evaluaron los efectos fijos del ambiente: año (A), nivel de N, e interacción A×N, y se estimaron las varianzas de los factores aleatorios genotipo (G, híbridos) y su interacción con el ambiente (G×A, G×N, G×A×N) mediante un modelo lineal mixto en R 4.1.0 (R Core Team, 2021; paquete *lme4*, versión 1.1-27.1):

$$Y_{ijklm} = \mu + A_i + B_j(A_i) + N_k + \varepsilon_{ijk} + A_i \times N_k + G_{lm} + G_{lm} \times A_i + G_{lm} \times N_k + G_{lm} \times A_i \times N_k + e_{ijklm}$$

$$\varepsilon_{ijk} \sim \text{iid } N(0, \sigma_\varepsilon^2); e_{ijklm} \sim \text{iid } N(0, \sigma^2)$$

donde  $Y_{ijklm}$  es el valor del carácter correspondiente al  $i$ -ésimo año ( $i = 6$ ),  $j$ -ésimo bloque ( $j = 3$ ),  $k$ -ésimo nivel de N ( $k = 2$ ),  $lm$ -ésimo híbrido ( $lm = 12$  en año 1,2 y 3,  $lm = 30$  en año 4, 5 y 6);  $\mu$  la media general;  $A_i$  el efecto del año;  $B_j(A_i)$  el efecto del bloque anidado en el año;  $N_k$  el efecto del nivel de N;  $A_i \times N_k$  es la interacción entre el año y el nivel de N;  $\varepsilon_{ijk}$  el error de la parcela principal;  $G_{lm}$  el efecto del híbrido;  $G_{lm} \times A_i$  es la interacción entre el híbrido y el año;  $G_{lm} \times N_k$  es la interacción entre el híbrido y el nivel de N;  $G_{lm} \times A_i \times N_k$  es la interacción entre el híbrido, año, y nivel de N; y  $e_{ijklm}$  es el error aleatorio. Los factores  $A_i$  y  $N_k$  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 el paquete *lme4*. A su vez, el efecto del híbrido se particionó en distintas fuentes de variación (Griffing 1956; Zhang & Kang, 1997):

$$G_{lm} = ACG_l + ACG_m + ACE_{lm} + REC_{lm}$$

donde  $ACG_l$  el efecto de ACG del parental  $l$ -ésimo;  $ACG_m$  el efecto de ACG del parental  $m$ -ésimo;  $ACE_{lm}$  el efecto de ACE del  $lm$ -ésimo híbrido  $F_1$ , y  $REC_{lm}$  el efecto del cruzamiento recíproco entre el parental  $l$ -ésimo y  $m$ -ésimo. Las varianzas de ACG, ACE, REC y sus interacciones con los componentes del ambiente (A y N) se estimaron mediante un modelo aleatorio (modelo 2; Griffing, 1956), y utilizando el Método 3 del análisis dialélico (Yao et al., 2013). Dicho análisis se llevó a cabo usando la función *mmer* (paquete *sommer*; Covarrubias-Pazarán, 2016) en R 4.1.0. Los mejores predictores lineales no sesgados (BLUPs) (Robinson, 1991) de ACG y ACE se estimaron para cada ambiente (E) y a través de todos los ambientes, y se usaron para construir las matrices para los análisis multivariados.

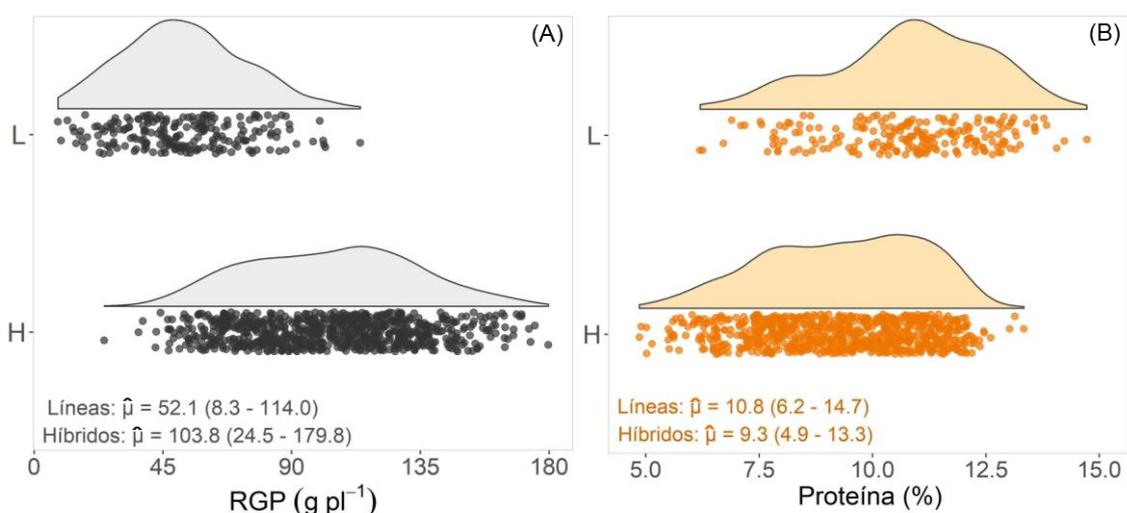
Con el propósito de analizar los patrones de ACG, ACE y sus interacciones con el ambiente, se llevaron a cabo distintos análisis multivariados para cada variable de interés (RGP y CPG) por separado. A partir de una matriz estandarizada de doble entrada  $6 \times 6$  (línea  $\times$  línea) de los BLUPs promedio a lo largo de todos los ambientes se realizaron los primeros dos análisis multivariados: (i) centrado y normalizado por el parental masculino (i.e. extrayendo la media y dividiendo por el desvío estándar) mediante el modelo SREG2 (modelo de regresión lineal con dos componentes principales) para analizar gráficamente la ACG de las líneas mediante un GGE *biplot* (Yan y Hunt, 2002), y (ii) centrado y normalizado por ambos parentales mediante el modelo AMMI2 para analizar la ACE de los cruzamientos (Narro et al., 2003). El tercer análisis multivariado se construyó a partir de una matriz estandarizada de doble entrada  $6 \times 12$  (línea  $\times$  ambiente) de los BLUPs para cada ambiente, centrado y normalizado por el ambiente mediante el modelo SREG2 para analizar gráficamente las interacciones ACG  $\times$  E mediante un GGE *biplot* (de la Vega y Chapman, 2006). Por último, para analizar las interacciones ACE  $\times$  E, se usó una matriz estandarizada  $15 \times 12$  (híbrido  $\times$  ambiente) de los BLUPs de ACE para cada ambiente, centrado y normalizado por el ambiente usando el modelo SREG2 mediante un GGE *biplot*. Para cada análisis se construyeron los *biplots* a partir de los primeros dos componentes principales (PC1 y PC2). Para los análisis multivariados se usó el paquete *metan* (versión 1.15.0; Olivoto y Lúcio, 2020) en R 4.1.0.

### 3. Resultados

#### 3.1. Caracterización fenotípica y ambiental

Los genotipos incluidos en el análisis cubrieron un amplio rango de variabilidad fenotípica en ambos caracteres (Figura 1). Para RGP, los híbridos

superaron a sus parentales en el valor medio (alrededor del doble), mínimo y máximo (Figura 1A), mientras que el patrón opuesto (superioridad de las líneas) se observó para CPG (Figura 1B).



**Figura 1.** Datos primarios y estadísticos descriptivos de (A) rendimiento en grano por planta (RGP), y (B) concentración de proteína en grano (CPG). Los datos corresponden a seis líneas endocriadas (L, n = 216) y sus híbridos simples derivados (H, n = 756) evaluados en un diseño de cruzamientos dialélico en 12 ambientes. Cada punto representa el mejor predictor lineal no sesgado (BLUPs) de cada combinación genotipo × repetición × nivel de N × año. Los valores medios ( $\hat{\mu}$ ) están acompañados por el rango (en paréntesis).

Entre los híbridos, los de tipo D×F exhibieron el mayor RGP promedio (109,3 g pl<sup>-1</sup>), siendo seguidos por los SF×F y F×F (106,8 y 97,5 g pl<sup>-1</sup>, respectivamente). Lo opuesto se observó para CPG, donde los híbridos de tipo F×F (9,8%) superaron en promedio al resto (SF×F: 9,5%, D×F: 8,9%). El híbrido de mayor RGP fue B100×LP662, el cual superó en un 22% al de menor rendimiento (LP611×LP662). Por el contrario, LP611×LP662 tuvo la mayor CPG (10,2 %; Cuadro 2).

Las diferencias entre ambientes en sus valores promedio fueron notorias tanto para RGP como CPG (Cuadro 3). Así, en el caso de RGP, la diferencia entre el mejor (15\_N1: 140,2 g pl<sup>-1</sup>) y peor (03\_N0: 59,8 g pl<sup>-1</sup>) ambiente fue de más del doble (135%). El contenido de proteína en grano también varió notablemente entre ambientes, registrándose una diferencia del 80% entre el mejor (09\_N1) y peor ambiente (04\_N0).

**Cuadro 2.** Híbridos simples de maíz provenientes del cruzamiento de seis líneas parentales endocriadas evaluados en 12 ambientes. Cada híbrido representa el

promedio del cruzamiento directo y recíproco. Para cada carácter el valor más alto se encuentra en **negrita**.

Híbrido	Tipo	RGP	CPG
		(g pl <sup>-1</sup> )	(%)
B100xLP2	DxF <sup>††</sup>	110,1 <sup>†</sup>	8,43
B100xLP561	DxF	109,3	8,90
B100xLP611	DxF	107,6	9,20
B100xLP662	DxF	<b>110,8</b>	9,15
B100xZN6	DxF	108,7	9,04
LP2xLP561	SFxF	109,1	9,43
LP2xLP611	SFxF	100,9	9,77
LP2xLP662	SFxF	109,9	9,36
LP2xZN6	SFxF	107,3	9,43
LP561xLP611	FxF	93,0	9,79
LP561xLP662	FxF	103,6	9,29
LP561xZN6	FxF	92,5	9,78
LP611xLP662	FxF	90,5	<b>10,2</b>
LP611xZN6	FxF	97,3	9,64
LP662xZN6	FxF	108,1	9,62

<sup>†</sup>Los valores de los caracteres corresponden a los mejores predictores lineales no sesgados (BLUPs) del promedio de cada híbrido.

<sup>††</sup>DxF: dentadoxflint; FxF: flintxflint; SFxF: semiflintxflint.

**Cuadro 3.** Descripción de los 12 ambientes en donde seis líneas parentales fueron evaluadas en un diseño de cruzamientos dialélico.

Ambiente	Año	Nitrógeno	Fecha de siembra	RGP	CPG
		(kg ha <sup>-1</sup> )		(g pl <sup>-1</sup> )	(%)
03_N0	2002/03	0	1-Nov	59,8 <sup>†</sup>	6,97
03_N1	2002/03	400		124,3	10,4
04_N0	2003/04	0	9-Oct	72,6	6,33
04_N1	2003/04	400		135,5	11,1
05_N0	2004/05	0	8-Nov	80,7	7,67
05_N1	2004/05	400		102,7	11,2
09_N0	2008/09	0	20-Oct	105,6	10,4
09_N1	2008/09	200		103,8	11,4
14_N0	2013/14	0	28-Oct	97,2	8,10
14_N1	2013/14	200		116,4	9,67
15_N0	2014/15	0	27-Oct	73,0	8,20
15_N1	2014/15	200		140,2	9,43

<sup>†</sup>Los valores de los caracteres corresponden a los mejores estimadores lineales insesgados (BLUEs) de los promedios ambientales.

### 3.2. Variabilidad y efectos genéticos

Los componentes del ambiente (A, N, A×N) exhibieron un efecto significativo ( $P < 0,001$ ) para ambos rasgos (Cuadro 4). La variación correspondiente al año fue de menor magnitud ( $< 10\%$ ) que la del nivel de N e interacción A×N (%Variación en Cuadro 4). Entre los componentes de varianza estimados, el correspondiente al genotipo fue mucho mayor que los de interacción con el ambiente, siendo similar en ambos caracteres analizados ( $\hat{\sigma}_G^2 \sim 70\%$  de la variabilidad total G+G×E). En consecuencia, la relación G/G×E fue mayor a 2, lo que indica que la magnitud de la varianza genotípica fue más del doble que la de interacción G×E (Cuadro 4). Respecto de este último, se destacó el componente G×A en ambos caracteres (Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Análisis del modelo mixto para rendimiento en grano por planta (RGP) y concentración de proteína en grano (CPG) a partir de un diseño de cruzamientos dialélico conducido durante seis años (A: 2002/03, 2003/04, 2004/05, 2008/09, 2013/14, 2014/15) y bajo dos niveles de nitrógeno (N: sin fertilizar, fertilizado con 200 o 400 kg N ha<sup>-1</sup>). Arriba: Significancia de los efectos fijos A, N, e interacción A×N, y porcentaje de variación respecto de la variabilidad total explorada por los efectos fijos (%Variación). Abajo: Componentes de la varianza estimados ( $\pm$  error estándar), y porcentaje de variación respecto de la variabilidad total G+G×E.

Fuente de variación	gl <sup>†</sup>	RGP		CPG	
		Valor P	%Variación	Valor P	%Variación
A	5	<0,001	4,1	<0,001	9,5
N	1	<0,001	40,4	<0,001	60,1
A×N	5	<0,001	55,5	<0,001	30,4
		(g pl <sup>-1</sup> )	%G+G×E	(%)	%G+G×E
$\hat{\sigma}_G^2$		93,7 ±31,3	69	0,266 ±0,083	68
$\hat{\sigma}_{G \times A}^2$		25,9 ±10,2	19	0,067 ±0,025	17
$\hat{\sigma}_{G \times N}^2$		16,2 ±9,0	12	0,013 ±0,015	3
$\hat{\sigma}_{G \times A \times N}^2$		0 ±0	0	0,046 ±0,025	12
$\hat{\sigma}_{BL(A)}^2$		25,0 ±14,2		0,061 ±0,032	
$\hat{\sigma}_e^2$		204 ±13,0		0,354 ±0,022	
ratio G/G×E		2,2		2,1	

<sup>†</sup> $\hat{\sigma}^2$ : componente de varianza; BL(A): bloque anidado en año; e: error experimental; E: ambiente; G: genotipo; gl: grados de libertad.

Cuando la  $\hat{\sigma}_G^2$  se desagregó en sus componentes genéticos, se observó una superioridad del efecto de ACG sobre ACE en ambos caracteres evaluados, aunque dicha superioridad fue mayor para CPG (Cuadro 5). Para este último, la

$\hat{\sigma}_{ACG}^2$  representó poco más de la mitad (50,9%) de la variabilidad total G+GxE explorada (Cuadro 5). Por el contrario, la magnitud del cruzamiento recíproco ( $\hat{\sigma}_{REC}^2$ ) fue despreciable (RGP) o directamente nula (CPG). En el caso del RGP, la  $\hat{\sigma}_{ACG}^2$  fue más del doble que la de su término de interacción con el ambiente ( $\hat{\sigma}_{ACG \times A}^2 + \hat{\sigma}_{ACG \times N}^2 + \hat{\sigma}_{ACG \times A \times N}^2$ ), dentro de la cual se destacó la  $\hat{\sigma}_{ACG \times A}^2$  (Cuadro 5). En cambio, la magnitud de  $\hat{\sigma}_{ACE}^2$  fue similar que la de su componente de interacción con el ambiente, destacándose la  $\hat{\sigma}_{ACE \times N}^2$ . Para el contenido de proteína, el patrón observado fue similar al del RGP, ya que la magnitud de  $\hat{\sigma}_{ACG}^2$  fue poco más del doble que la de su término de interacción con el ambiente, pero a diferencia de lo observado para RGP, la  $\hat{\sigma}_{ACE}^2$  fue considerablemente mayor (~50%) que la suma de sus interacciones con los componentes del ambiente (Cuadro 5).

**Cuadro 5.** Componentes de la varianza estimados ( $\pm$  error estándar) y porcentaje de variación respecto de la variabilidad total G+GxE obtenidos a partir del análisis del modelo mixto para rendimiento en grano por planta (RGP) y concentración de proteína en grano (CPG) evaluados en un diseño de cruzamientos dialéctico durante seis años (A: 2002/03, 2003/04, 2004/05, 2008/09, 2013/14, 2014/15) y bajo dos niveles de nitrógeno (N: sin fertilizar, fertilizado con 200 o 400 kg N ha<sup>-1</sup>).

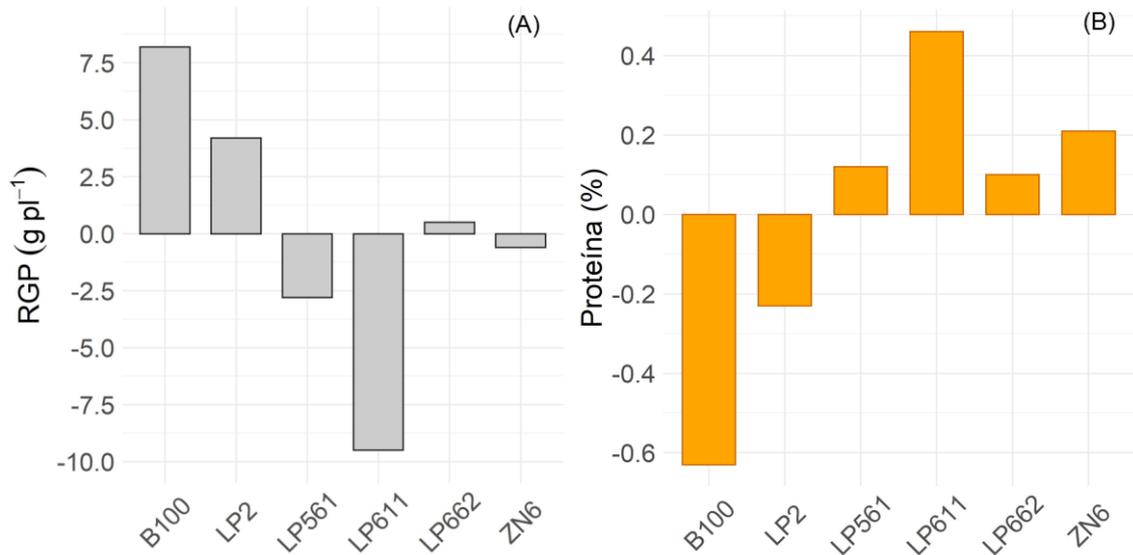
Fuente de variación	RGP		CPG	
	(g pl <sup>-1</sup> )	%G+GxE	(%)	%G+GxE
$\hat{\sigma}_{ACG}^{\dagger}$	42,2 $\pm$ 35,6	37,0	0,148 $\pm$ 0,111	50,9
$\hat{\sigma}_{ACG \times A}^2$	11,9 $\pm$ 8,8	10,4	0,037 $\pm$ 0,024	12,7
$\hat{\sigma}_{ACG \times N}^2$	0 $\pm$ 5,6	0,0	0,006 $\pm$ 0,011	2,1
$\hat{\sigma}_{ACG \times A \times N}^2$	6,6 $\pm$ 6,3	5,8	0,026 $\pm$ 0,016	8,9
$\hat{\sigma}_{ACE}^2$	25,7 $\pm$ 20,0	22,5	0,040 $\pm$ 0,028	13,7
$\hat{\sigma}_{ACE \times A}^2$	8,9 $\pm$ 9,1	7,8	0,017 $\pm$ 0,018	5,8
$\hat{\sigma}_{ACE \times N}^2$	14,9 $\pm$ 11,5	13,1	0,003 $\pm$ 0,011	1,0
$\hat{\sigma}_{ACE \times A \times N}^2$	0 $\pm$ 9,8	0,0	0,007 $\pm$ 0,019	2,4
$\hat{\sigma}_{REC}^2$	1,7 $\pm$ 3,1	1,5	0 $\pm$ 0	0,0
$\hat{\sigma}_{REC \times A}^2$	0 $\pm$ 4,4	0,0	0 $\pm$ 0,009	0,0
$\hat{\sigma}_{REC \times N}^2$	2,2 $\pm$ 3,9	1,9	0 $\pm$ 0,005	0,0
$\hat{\sigma}_{REC \times A \times N}^2$	0 $\pm$ 7,0	0,0	0,007 $\pm$ 0,014	2,4
$\hat{\sigma}_{BL(A)}^2$	25,2 $\pm$ 14,2		0,061 $\pm$ 0,032	
$\hat{\sigma}_e^2$	199 $\pm$ 12,7		0,354 $\pm$ 0,022	

$\dagger \hat{\sigma}^2$ : componente de varianza; ACG: aptitud combinatoria general; ACE: aptitud combinatoria específica; BL(A): bloque anidado en año; e: error experimental; E: ambiente; G: genotipo; REC: cruzamiento recíproco.

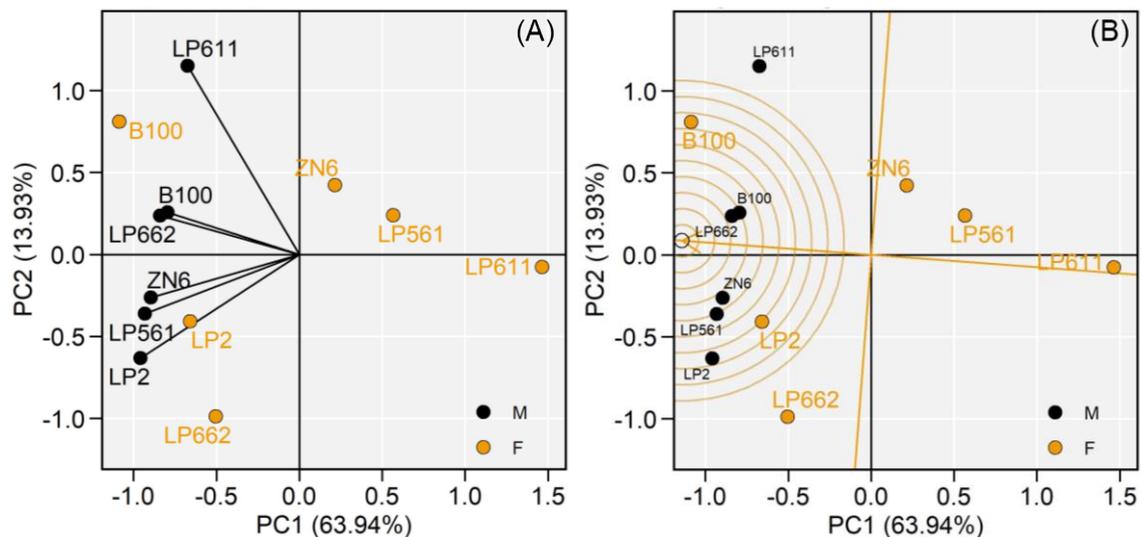
### 3.3. Aptitud combinatoria de las líneas

Las líneas variaron fuertemente en sus valores de ACG promedio a través de ambientes tanto para RGP como CPG (Figura 2). La línea dentada B100 fue la de mayor ACG para RGP ( $\sim 8 \text{ g pl}^{-1}$ ), seguida por LP2, mientras que la línea flint LP611 exhibió el valor más bajo (Figura 2A). El mismo patrón se observó a partir del *biplot* centrado por el parental masculino, el cual explicó en sus primeros dos componentes (PC1 y PC2) el 78% de la variabilidad total explorada (Figura 3). Así, los parentales (femeninos) B100 y LP2 interceptaron positivamente en sus proyecciones perpendiculares a los parentales (masculinos) representados como vectores desde el origen, en particular a las cuatro líneas flint (Figura 3A). Lo inverso se observó para LP611, cuya proyección interceptó a los vectores en sus regiones negativas, asociándose negativamente con el resto de las líneas. De esta manera, cuando las líneas parentales femeninas se proyectaron sobre la abscisa (en naranja) del probador masculino promedio representado por el círculo negro vacío, se clasificaron por su ACG de acuerdo a su ubicación perpendicular sobre dicha abscisa (Figura 3B). En función de su ubicación sobre el probador promedio, las líneas se ordenaron por su ACG como B100>LP2>LP662>ZN6>LP561>LP611, en concordancia con los valores de ACG observados en la Figura 2A.

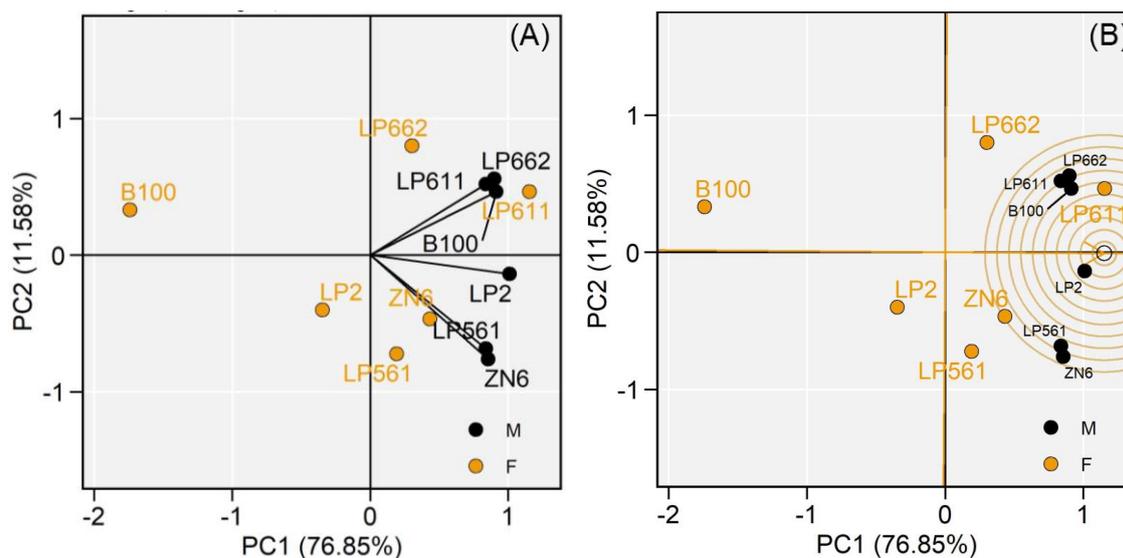
La ACG de las líneas promedio a través de los ambientes para CPG siguió el patrón inverso al observado para RGP (Figura 2B), ya que las cuatro líneas flint exhibieron ACG positiva, destacándose LP611 como la de mayor valor (0,45%). Por el contrario, B100 y LP2 tuvieron la menor ACG (Figura 2B). El *biplot* para CPG, explicó en sus primeros dos componentes (PC1 y PC2) el 88% de la variabilidad total explorada (Figura 4). La línea parental (femenina) LP611 interceptó en el sentido positivo a todos los vectores del resto de las líneas parentales (masculinos); mientras que, por el contrario, B100 expresó el patrón opuesto, asociándose negativamente con las demás líneas (Figura 4A). Asimismo, cuando las líneas se proyectaron sobre la abscisa del parental masculino promedio (en naranja), se observó que LP611 fue la de mayor ACG, ubicándose cercana a dicho probador (círculo negro vacío). Por el contrario, LP2 y sobre todo B100 interceptaron a la abscisa del probador en su sentido negativo (Figura 4B). Por su parte, LP662 fue la única línea que interceptó positivamente al probador promedio en ambos caracteres (Figuras 3B y 4B), exhibiendo un buen comportamiento a la hora de cruzarse con las demás líneas tanto para RGP como para CPG.



**Figura 2.** Aptitud combinatoria general (ACG) de las seis líneas endocriadas evaluadas en un diseño de cruzamientos dialélico en 12 ambientes para (A) rendimiento en grano por planta (RGP), y (B) concentración de proteína en grano.



**Figura 3.** GGE *biplot* de los dos primeros componentes principales (PC1 y PC2) centrados por el parental masculino para rendimiento en grano por planta (RGP) de seis líneas parentales evaluadas en un diseño de cruzamientos dialélico en 12 ambientes. (A) Los parentales masculinos (M) están representados por vectores desde el origen y los femeninos (F) por puntos en color naranja. (B) Ubicación de las líneas respecto del probador promedio representado por el círculo negro vacío.



**Figura 4.** GGE *biplot* de los dos primeros componentes principales (PC1 y PC2) centrados por el parental masculino para concentración de proteína en grano (CPG) de seis líneas parentales evaluadas en un diseño de cruzamientos dialélico en 12 ambientes. (A) Los parentales masculinos están representados por vectores desde el origen y los femeninos por puntos en color naranja. (B) Ubicación de las líneas respecto del probador promedio representado por el círculo negro vacío.

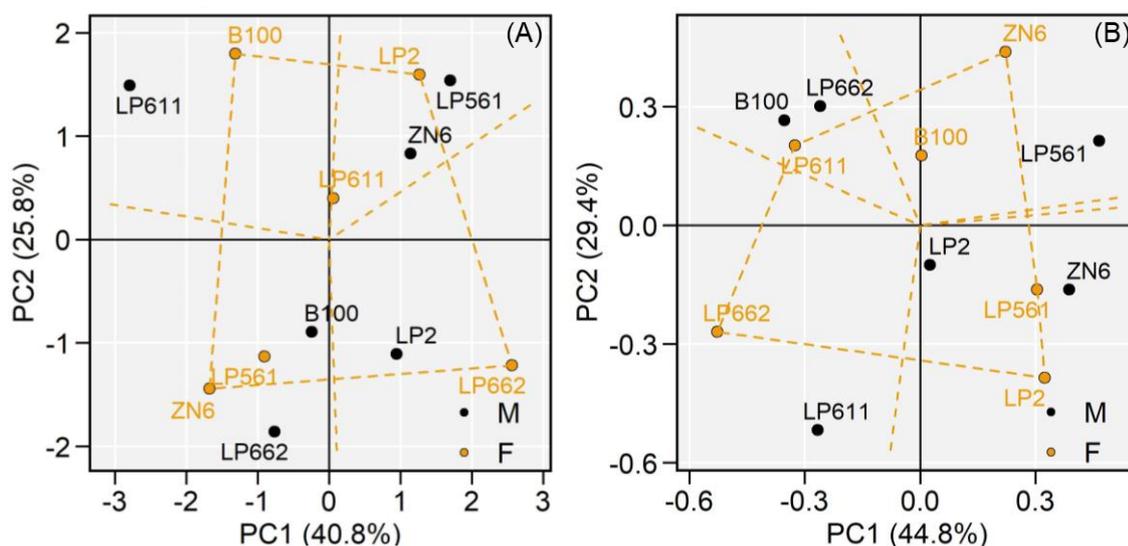
Respecto del análisis de ACE de los cruzamientos entre las líneas a través de todos los ambientes para RGP, el *biplot* centrado por ambos parentales (femenino y masculino) explicó en sus primeros dos componentes (PC1 y PC2) el 66% de la variabilidad total explorada (Figura 5A). Los genotipos ubicados en los vértices del polígono exhibieron alta ACE con aquellos ubicados dentro del mismo sector del polígono. Así, se destaca la asociación positiva de B100 con LP611, LP2 con LP561, LP662 con LP2, y ZN6 con LP662 (Figura 5A). Todas las asociaciones mencionadas se corresponden con los valores más altos de ACE (Cuadro 6). Asimismo, las líneas ubicadas en el sector opuesto en relación al vértice de cada polígono (ángulo de 180°) resultaron ser las peores combinaciones entre sí. Esto se observó entre LP611 y LP662, LP561 y ZN6, y entre B100 y LP2 (Figura 5A), quienes exhibieron las menores ACEs (Cuadro 6).

A partir del análisis de las ACEs de los cruzamientos para CPG, el *biplot* explicó en sus primeros dos componentes principales el 74% de la variabilidad total (Figura 5B). Se observó una asociación fuerte y positiva de LP611 con LP662, y de LP561 con ZN6 (Figura 5B), reflejándose en los valores altos de ACE entre dichas líneas (Cuadro 6). Asimismo, ambos grupos de líneas (LP611, LP662 vs. LP561, ZN6) se asociaron negativamente entre sí (Figura 5B), exhibiendo bajos valores de ACE. Por su parte, pese a que B100 (en

negro) se ubicó dentro del sector delimitado por el vértice de LP611 (en naranja), ambas líneas tuvieron baja ACE, probablemente debido a que la relación recíproca (B100 en naranja y LP611 en negro) fue negativa (Figura 5B). El mismo patrón de respuesta se observó para la relación entre LP2 y ZN6.

**Cuadro 6.** Aptitud combinatoria específica (ACE) del cruzamiento de seis líneas endocriadas evaluadas en un diseño de cruzamientos dialélico en 12 ambientes para rendimiento en grano por planta (a la derecha de la diagonal, en  $\text{gr pl}^{-1}$ ) y concentración de proteína en grano (a la izquierda de la diagonal, en %). Para cada carácter el valor más alto se encuentra en **negrita**.

	B100	LP2	LP561	LP611	LP662	ZN6
B100		-1,8	2,6	<b>3,2</b>	0,4	0,5
LP2	-0,117		3,0	-0,5	1,8	0,2
LP561	0,005	0,015		-3,5	2,9	-6,6
LP611	-0,053	0,089	-0,040		-7,7	2,8
LP662	-0,005	-0,018	-0,117	<b>0,201</b>		2,9
ZN6	0,053	-0,018	0,159	-0,112	-0,042	



**Figura 5.** AMMI2 *biplot* de los dos primeros componentes principales (PC1 y PC2) centrados por ambos parentales (masculino y femenino) para (A) rendimiento en grano por planta (RGP), y (B) concentración de proteína en grano (CPG) de seis líneas parentales evaluadas en un diseño de cruzamientos dialélico en 12 ambientes. Los parentales masculinos están representados en color negro y los femeninos en naranja. El polígono naranja une a los parentales femeninos que se encuentran más alejados del origen del *biplot*, y cada cara del polígono es atravesada perpendicularmente por

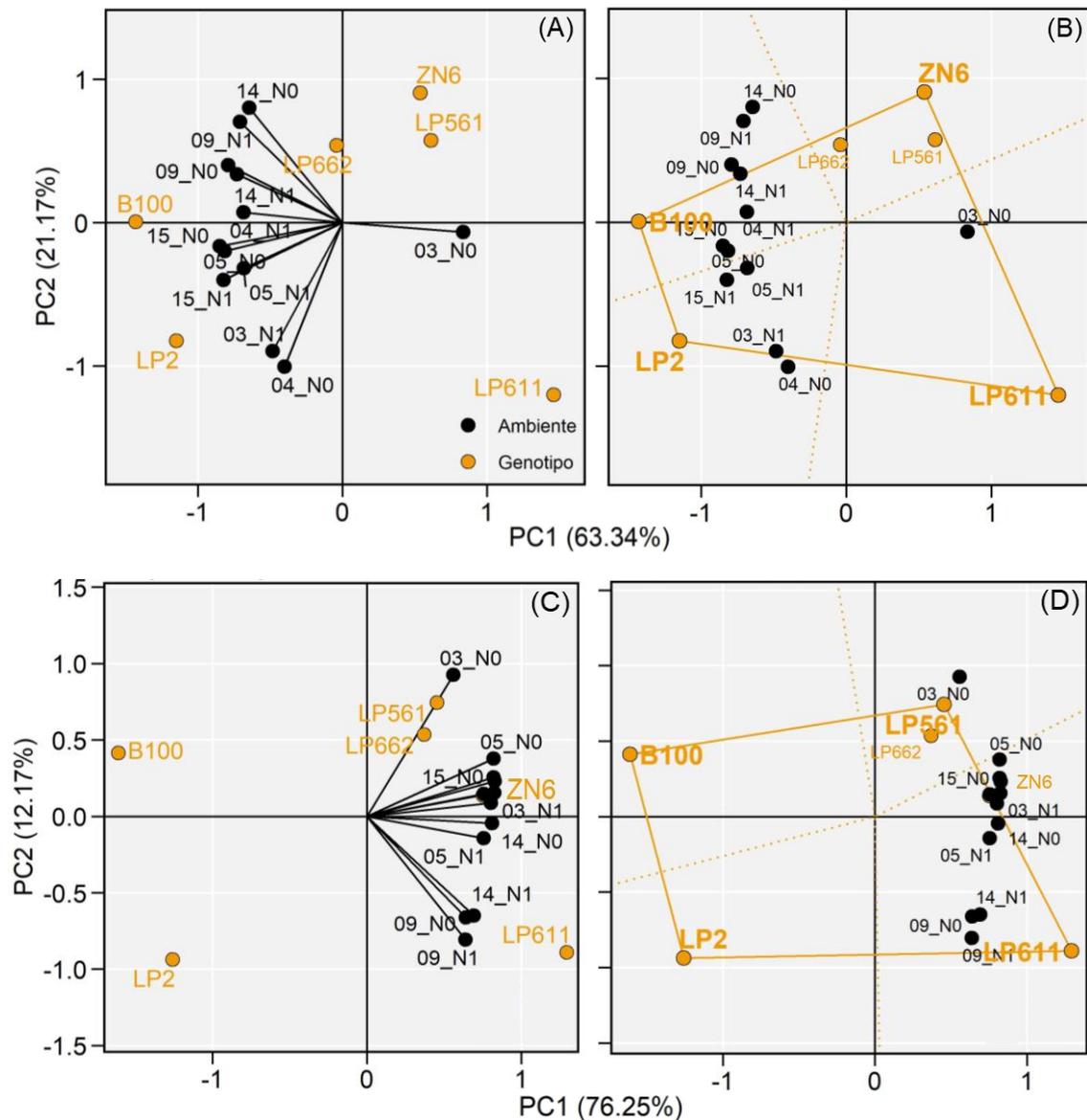
una línea punteada que divide al *biplot* en sectores en donde se destaca un genotipo ubicado en el vértice de cada sector.

### 3.4. Interacción aptitud combinatoria x ambiente

El *biplot* de ACG de las líneas explicó en sus primeros dos componentes principales el 84 y 88% de la variabilidad total explorada para RGP y CPG, respectivamente (Figuras 6A y C). Los ambientes se distribuyeron principalmente a lo largo del segundo componente principal, mientras que las ACGs de las líneas cubrieron un amplio rango del espacio del *biplot* (Figuras 6A y C). Las proyecciones de los genotipos sobre el PC1 reflejaron el ranking de ACG, con el mayor valor para aquellos ubicados hacia la izquierda del *biplot* para RGP, y viceversa para CPG (Figuras 6A y C), en concordancia con el ranking observado previamente al analizar las ACGs de las líneas promedio a través de ambientes (Figuras 3B y 4B).

Para RGP (Figura 6A), la ACG de B100 interceptó positivamente a todos los ambientes (excepto a 03\_N0). El mismo patrón se observó para la ACG de LP2, mientras que LP611 se asoció negativamente con la mayoría de los ambientes debido a su ubicación en el extremo derecho del *biplot*. Así, el sector delimitado por la línea dentada incluyó a gran parte de los ambientes evaluados, seguido por el sector correspondiente a LP2, mientras que aquel perteneciente a las líneas flint no incluyó a casi ningún ambiente (Figura 6B). Por su parte, la agrupación de ambientes estuvo más asociada con los distintos años (2009, 2014 vs. 2005, 2015 vs. 2003) que con los niveles de N, destacándose la asociación negativa entre el peor ambiente (03\_N0) y el resto (Figura 6A). Esta mayor importancia del año coincide con la magnitud de la interacción ACGxA (i.e.  $\hat{\sigma}_{ACG \times A}^2$ ), la cual fue la más alta en comparación con las demás interacciones de ACG con los componentes del ambiente (Cuadro 5).

En el caso del CPG (Figura 6C), se observó lo inverso que para RGP, destacándose la ACG de las líneas flint (agrupadas en el sector derecho del *biplot*) y en particular de LP611, interceptando en el sentido positivo a los ambientes evaluados. Asimismo, el sector delimitado por LP611 incluyó a casi todos los ambientes, mientras que, por el contrario, el sector perteneciente a B100 y LP2 no abarcó a ninguno (Figura 6D). Respecto de la agrupación de ambientes, estuvo más asociada con la variación interanual (como ya se observó para RGP), con 2009 y 2014 (N1) agrupados y separados del resto de los años, al igual que 2003 (N0) (Figura 6C).



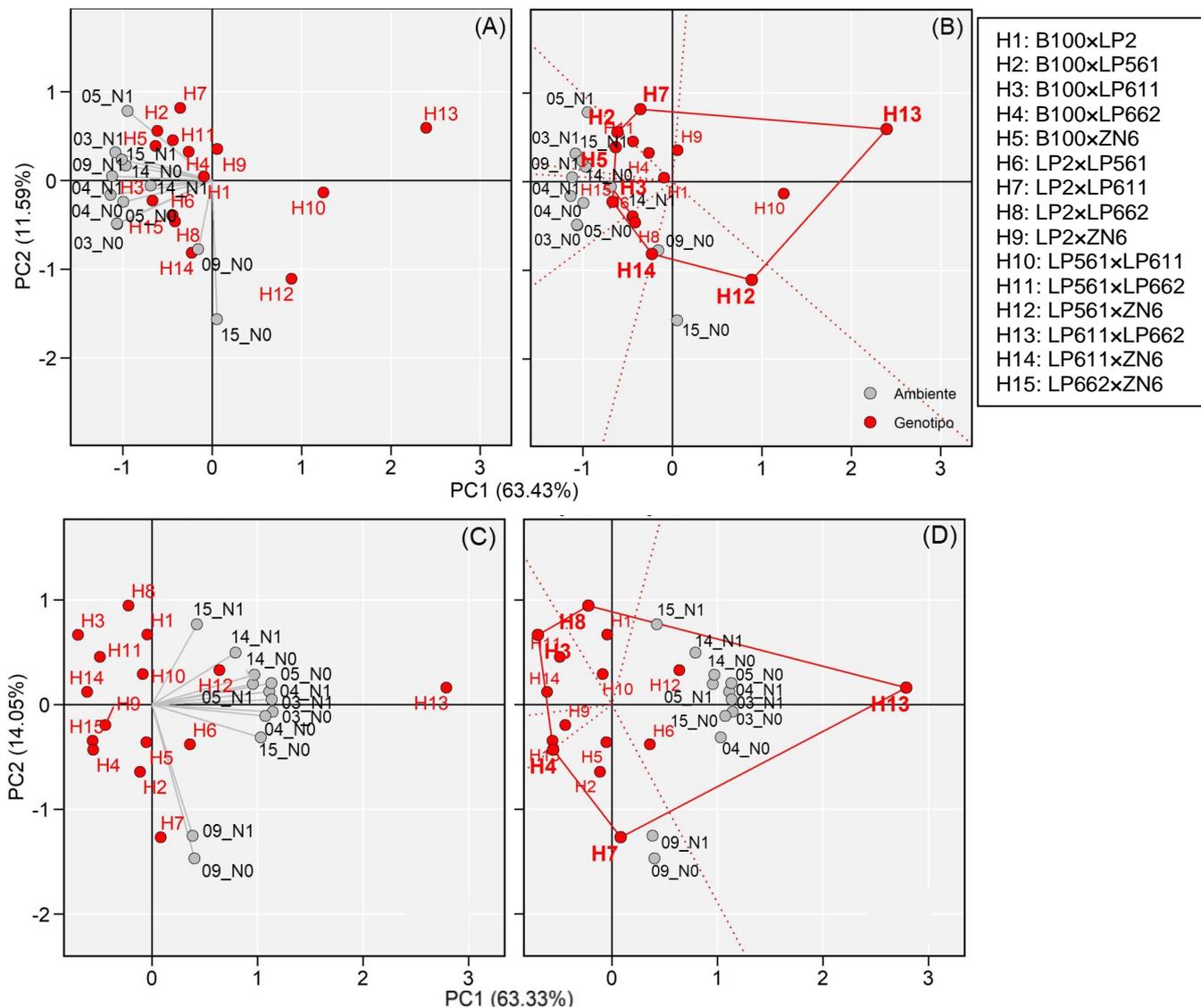
**Figura 6.** GGE *biplot* de los dos primeros componentes principales (PC1 y PC2) centrados por el ambiente para (A, B) rendimiento en grano por planta (RGP), y (C, D) concentración de proteína en grano (CPG) de seis líneas parentales evaluadas en un diseño de cruzamientos dialélico en 12 ambientes. Los ambientes están representados por vectores desde el origen y las líneas parentales por puntos. En (C) y (D) el polígono naranja une a los genotipos que se encuentran más alejados del origen del *biplot*, y cada cara del polígono es atravesada perpendicularmente por una línea punteada que divide al *biplot* en sectores en donde se destaca el genotipo ubicado en el vértice de cada sector.

El *biplot* de ACE de los cruzamientos explicó en sus primeros dos componentes principales el 75 y 77% de la variabilidad total explorada para RGP y CPG, respectivamente (Figuras 7A y C). Los ambientes se distribuyeron principalmente a lo largo del segundo componente principal, hacia la izquierda y derecha para RGP y CPG, respectivamente; mientras que las ACEs de los

cruzamientos se ordenaron a lo largo de ambos ejes (Figuras 7A y C). Las proyecciones de los genotipos sobre el PC1 reflejaron el ranking de ACE, destacándose aquellos ubicados hacia la izquierda del *biplot* para RGP, y viceversa para CPG (Figuras 7A y C).

En el *biplot* de RGP (Figura 7A), se destacaron las ACEs de los cruzamientos que incluyeron a la línea dentada B100 como uno de sus parentales, en particular H2, H3 y H5, interceptando positivamente a la mayoría de los ambientes. Así, los sectores delimitados por dichos híbridos incluyeron a gran parte de los ambientes evaluados (Figura 7B), con H2 y H5 asociados mayormente con los ambientes bajo N1, y H3 con aquellos correspondientes a N0. El H1 (B100×LP2) se ubicó cercano a origen, lo que indicó un valor de ACE promedio a lo largo de todos los ambientes; mientras que H13 (LP611×LP662) se ubicó en el extremo derecho del espacio, exhibiendo bajos valores de ACE en todos los ambientes explorados (Figuras 7A y B). La agrupación de ambientes estuvo asociada principalmente con los distintos niveles de N, con los correspondientes a N1 ubicados en el cuadrante superior (destacándose 05\_N1) y los N0 en el inferior (sobre todo 09\_N0 y 15\_N0) (Figura 7A). Esto coincide con la magnitud de la interacción ACE×N (i.e.  $\hat{\sigma}_{ACE \times N}^2$ ) para RGP, la cual fue la más alta en comparación con el resto de las interacciones ACE por ambiente (Cuadro 5).

En el caso del contenido de proteína (Figura 7C), la ACE del cruzamiento entre las líneas flint LP611×LP662 (H13) interceptó positivamente a todos los vectores ambientales, destacándose en todos los ambientes analizados. El patrón inverso (asociaciones negativas con los ambientes) se observó en una proporción importante de los cruzamientos evaluados (Figura 7C). Entre los ambientes, resultó notoria la separación de los correspondientes a 2009 (09\_N0 y 09\_N1) respecto del resto, con los primeros ubicados en el sector delimitado por H7 (LP2×LP611) y los segundos dentro del sector de H13 (Figura 7D).



**Figura 7.** GGE *biplot* de los dos primeros componentes principales (PC1 y PC2) centrados por el ambiente para (A, B) rendimiento en grano por planta (RGP), y (C, D) concentración de proteína en grano (CPG) de la ACE de los cruzamientos de seis líneas parentales evaluadas en un diseño de cruzamientos dialéctico en 12 ambientes. Los ambientes están representados por vectores desde el origen y las líneas parentales por puntos. En (C) y (D) el polígono rojo une a los genotipos que se encuentran más alejados del origen del *biplot*, y cada cara del polígono es atravesada perpendicularmente por una línea punteada que divide al *biplot* en sectores en donde se destaca el genotipo ubicado en el vértice de cada sector.

#### 4. Discusión

En la presente tesis se caracterizó el modo de acción génica subyacente al rendimiento y concentración de proteína en grano mediante el uso de análisis multivariados basados en modelos multiplicativos que permitieron caracterizar gráficamente los efectos de ACG y ACE, y sus correspondientes interacciones

con el ambiente. En ambos caracteres evaluados se exploró una gran variabilidad fenotípica (Figura 1), producto de la amplia variabilidad genética y rango de ambientes evaluados dados por niveles de N contrastantes a lo largo de un número importante de estaciones de crecimiento. El componente de varianza genotípica (G) fue mucho mayor que el de su término de interacción con el ambiente (G×E) y similar en ambos caracteres, representando alrededor del 70% de la variabilidad total G+G×E. Esto probablemente se deba a la amplia variabilidad genética explorada, dada no sólo por el considerable número de genotipos empleado (n=36), sino principalmente como consecuencia del fondo genético (diverso) de las líneas endocriadas evaluadas, con germoplasma americano templado tipo dentado, argentino tipo flint y semiflint caribeño.

#### *4.1. Aptitud combinatoria e interacción con el ambiente para rendimiento y concentración de proteína en grano*

La ACG promedio de todos los ambientes fue mayor que la ACE para RGP y sobre todo para CPG, para la cual representó alrededor de la mitad de la variabilidad total G+G×E explorada (Cuadro 5). Esto sugiere la predominancia del tipo de acción génica aditiva para ambos caracteres evaluados (Rojas y Sprague, 1952). Trabajos previos han referido una mayor importancia de los efectos aditivos para rendimiento (Hallauer y Miranda, 1988; Vasal et al., 1993; Betrán et al., 2003a) y concentración de proteína en grano (Wegary et al., 2011; Ngaboyisonga et al., 2008). Asimismo, la proporción de varianza total correspondiente a efectos de ACG fue mayor para CPG que RGP. Los efectos de ACG suelen ser más importantes para los caracteres secundarios que para el rendimiento en sí mismo (Betrán et al., 2003c). Las magnitudes de los componentes de ACG y ACE dependen no sólo del rasgo considerado sino también de la estructura de la población y distancia genética del germoplasma evaluado (Hallauer y Miranda, 1988). Así, la preponderancia de los efectos de ACG sobre los de ACE tienden a acentuarse cuando el material genético proviene de grupos heteróticos diferentes (Larièpe, 2017), como en el caso de la presente tesis (líneas parentales flint, semiflint, y dentada).

Los efectos de ACG y ACE interactuaron con el ambiente, pero con diferencias en las magnitudes de sus interacciones totales y con cada uno de los componentes del ambiente (Cuadro 5). En el caso de la interacción ACG × ambiente, su magnitud fue similar en ambos caracteres (~45% en comparación con el efecto de ACG), destacándose la interacción ACG×A. Esto concuerda con hallazgos previos donde se observó una superioridad del componente de ACG×A respecto del de interacción ACE×A para RGP (Zhang et al., 2016;

Josue y Brewbaker, 2018). Por el contrario, la interacción ACE  $\times$  ambiente fue de magnitud similar al efecto de ACE, particularmente en el caso del RGP, destacándose su interacción ACE $\times$ N (Cuadro 5). Betrán et al. (2003a) detectaron cambios importantes en la magnitud del componente de ACE al comparar entre ambientes de baja y alta oferta de N, con un aumento de la ACE en la condición de baja disponibilidad de N. Mecanismos fisiológicos y genéticos diferentes están involucrados en la obtención de alto RGP en condiciones contrastantes de oferta de N (Eixen y Saxton, 1983; Bänziger et al., 1997). Nuestros resultados reflejan la importancia en la identificación de los distintos factores del ambiente a la hora de evaluar las interacciones con los distintos efectos genéticos. Así, los efectos aditivos de ACG responderán más frente a los cambios en factores no predecibles dados por el efecto del año, en particular los niveles de radiación solar y temperatura, ya que en esta tesis la disponibilidad hídrica se mantuvo relativamente constante mediante el riego. En cambio, los efectos genéticos no aditivos (ACE) parecen responder en mayor medida a los cambios en factores ambientales manipulables como la oferta de N. Estas respuestas diferenciales de los distintos efectos genéticos frente a los cambios en el ambiente explorado deben ser consideradas durante el proceso de mejoramiento, ya que contribuyen a un mejor entendimiento de las interacciones G $\times$ E, contribuyendo a incrementar la eficiencia en la selección.

#### *4.2. Aptitud combinatoria de las líneas y su relación con el tipo de germoplasma evaluado*

Las líneas parentales se diferenciaron notablemente entre sí en sus valores de ACG para los caracteres evaluados (Figura 2), lo que se atribuye en gran parte a la diversidad genética del germoplasma utilizado (flint, semiflint, dentado). Para RGP, se destacó la ACG de la línea dentada B100 (Figura 3), mientras que la mayoría de las líneas flint exhibieron valores negativos de ACG (excepto LP662). Por el contrario, para CPG, B100 tuvo el valor más bajo de ACG, destacándose las ACGs de las líneas flint, sobre todo de LP611 (Figura 4). Genotipos flint poseen menor RGP que los dentados, como resultado de un menor número y peso potencial de los granos (Tamagno et al., 2015; 2016). Asimismo, cuando materiales flint son comparados en distintos ambientes, aquellos con mayor dureza del endosperma (característica asociada positivamente con la concentración y calidad de proteína en grano) poseen menor RGP (Eyherabide et al., 2004). En este sentido, no sorprende que la línea de mayor ACG para CPG (LP611) sea, a su vez, la de menor ACG para RGP. A partir del GGE *biplo*t de ACG para RGP, se observó la superioridad de B100 en gran parte de los ambientes evaluados; no obstante, en algunos de

ellos se destacó también la línea semiflint LP2 (Figura 3). En concordancia con lo observado respecto de la presencia de interacciones  $ACG \times A$ , se desprende la necesidad de evaluar la ACG de las líneas en distintos años para obtener una caracterización más precisa de sus habilidades para combinarse con el resto de los genotipos evaluados.

La línea dentada B100 no sólo se destacó en su valor de ACG para RGP, sino que también exhibió altos valores de ACE en los cruzamientos con las líneas flint (Cuadro 6; Figura 7). Por el contrario, LP611 tuvo valores de ACE negativos en sus combinaciones con la mayoría de las líneas. No obstante, la ACE promedio más alta correspondió al cruzamiento B100×LP611 (Cuadro 6; Figura 5), lo que evidencia el fuerte impacto de los efectos de interacción al combinar parentales distantes genéticamente provenientes de grupos heteróticos distintos (Melchinger, 1999). Así, todas las combinaciones de B100 con el resto de las líneas exhibieron valores altos de ACE, aunque algunas resultaron más favorables que otras dependiendo del nivel de N considerado (Figura 7), en concordancia con la presencia de interacción  $ACE \times N$  comentada previamente. De esta manera, dependiendo del ambiente objetivo para el cual se mejora (potencial o restrictivo en oferta de N) variará la elección del parental que resulte más favorable para combinarse en este caso con B100.

El híbrido de mayor RGP promedio a lo largo de todos los ambientes fue B100×LP662 (Cuadro 2), el cual integró valores positivos de ACG (destacándose el de B100), y un valor moderado de ACE de la cruce entre ambos parentales. Por su parte, LP611×LP662, híbrido conformado únicamente por materiales flint, fue el de mayor CPG promedio (Cuadro 2), como resultado de altos valores de ACG de cada parental y de la ACE más alta de todas. Lo observado permite destacar el comportamiento de la línea parental LP662, la cual exhibió tanto para RGP como CPG un buen comportamiento para combinarse con el resto de las líneas, evidenciando la posibilidad de mejorar ambos rasgos conjuntamente.

## 5. Conclusiones

La ACG promedio fue mayor que la ACE para RGP y CPG, predominando el tipo de acción génica aditiva, sobre todo para CPG, para la cual la proporción de varianza total correspondiente a efectos de ACG fue más alta que para RGP. Los efectos de ACG y ACE interactuaron con el ambiente, destacándose en el caso de ACG su interacción con el año ( $ACG \times A$ ) en ambos caracteres, y en ACE su interacción con el nivel de N ( $ACE \times N$ ) para el RGP. Estas respuestas diferenciales de los distintos efectos genéticos frente a los cambios en los componentes del ambiente deben ser tenidas en cuenta durante el

proceso de mejoramiento, ya que contribuyen a un mejor entendimiento de las interacciones G×E, aumentando la eficiencia con la que se aplica selección.

Las líneas parentales se diferenciaron notablemente entre sí en sus valores de ACG, destacándose la línea dentada B100 para RGP, y la línea flint LP611 para CPG. Asimismo, todas las combinaciones de B100 con el resto de las líneas exhibieron valores altos de ACE, aunque algunas resultaron más favorables que otras dependiendo del nivel de N considerado. Por lo tanto, dependiendo del ambiente objetivo para el cual se mejora (potencial o restrictivo en oferta de N) variará la elección del parental más favorable para combinarse con B100. La línea LP662 exhibió, en promedio, buen comportamiento en la combinación con el resto de las líneas, y conformó el híbrido de mayor RGP (B100×LP662) y CPG (LP611×LP662). De esta manera, la respuesta observada en LP662 evidencia la factibilidad en la mejora conjunta de ambos caracteres, rendimiento y concentración de proteína en grano.

## Referencias

- Bänziger, M., Betrán, F.J., Lafitte, H.R. 1997. Efficiency of high-nitrogen selection environments for improving maize for low-nitrogen target environments. *Crop Sci.* 37:1103–1109.
- Below, F.E. 2002. Nitrogen metabolism and crop productivity. Pp. 385–406 en: Pessarakli, M. (ed.) *Handbook of plant and crop physiology*. Marcel Dekker, New York.
- Bernardo, R. 2002. *Breeding for quantitative traits in plants*. Stemma Press. Woodbury, MN, USA.
- Betrán, F.J., Beck, D., Bänziger, M., Ribaut, J.M., Edmeades, G.O. 1997. Breeding for drought tolerance in tropical maize. Pp. 169–177 en Tsafaris, A.S. (ed.) *Genetics, biotechnology and breeding of maize and sorghum*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.
- 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.

- Covarrubias-Pazarán, G. 2016. Genome-assisted prediction of quantitative traits using the R package *sommer*. *Plos one* 11(6):e0156744.
- D'Andrea, K.E., Otegui, M.E., Cirilo, A.G., Eyhéabide, G.H. 2006. Genotypic variability in morphological and physiological traits among maize inbred lines. I. Response to nitrogen availability. *Crop Sci.*, 46:1266–1276.
- de la Vega, A.J., Chapman, S.C. 2006. Multivariate analyses to display interactions between environment and general or specific combining ability in hybrid crops. *Crop Sci.*, 46:957–967.
- Eyhéabide, G., Robutti, J.L., Percibaldi, N.M., Presello, D., Alvarez, M.D.P. 2004. Association between grain yield and endosperm hardness in maize cultivars. *Maydica* 49:319–326.
- Eyhéabide, G.H., Nestares, G., Hourquescos, M.J. 2006. Development of a heterotic pattern in orange flint maize. In K. R. Lamkey & M. Lee (Eds.), *Plant breeding: The Arnel R Hallauer International Symposium* (pp. 368–379). Blackwell Publishing.
- Gabriel, K.R. 1971. The biplot-graphical display of matrices with applications to principal component analysis. *Biometrika* 58:453–467.
- 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.
- Hisse, I.R., D'Andrea, K.E., Otegui, M.E. 2021. Kernel weight responses to the photothermal environment in maize dent × flint and flint × flint hybrids. *Crop Sci.*, 61:1996–2011.
- 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.
- Larièpe, A., Moreau, L., Laborde, J., Bauland, C., Mezouk, S., Décousset, L., Mary-Huard, T., Fiévet, J.B., Gallais, A., Dubreuil, P., Charcosset, A. 2017. General and specific combining abilities in a maize (*Zea mays* L.) test-cross hybrid panel: relative importance of population structure and genetic divergence between parents. *Theor. and Ap. Gen.*, 130:403–417.
- 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.
- 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.
- Ngaboyisonga, C., Njoroge, K., Kirubi, D., Githiri, S.M. 2008. Effects of field conditions, low nitrogen and drought on genetic parameters of protein and tryptophan concentration in grain of quality protein maize. *IJPP* 2:137–152.
- Narro, L., Pandey, S., Crossa, J., De León, C., Salazar, F. 2003. Using line 3 tester interaction for the formation of yellow maize synthetics tolerant to acid soils. *Crop Sci.* 43:1718–1728.
- Olivoto, T, Lúcio, A.D. 2020. Metan: An R package for multi-environment trial analysis. *Methods Ecol. Evol.* 11:783–789.
- R Core Development Team. 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Ritchie, S.W., Hanway, J.J., Benson, G.O. 1992. How a plant crop develops. Iowa State University of Science and Technology, Coop. Ext. Serv., Ames, Iowa, 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.
- 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.
- 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.
- Uribelarrea, M., Crafts-Brandner, S., Below, F. 2009. Physiological N response of field-grown maize hybrids (*Zea mays* L.) with divergent yield potential and grain protein concentration. *Plant Soil*, 316:151–160.
- Vasal, S.K., Srinivasan, G., Pandey, S., González, C.F., Crossa, J., Beck, D.L. 1993. Heterosis and combining ability of CIMMYT's quality protein maize germplasm: I. Lowland tropical. *Crop Sci.* 33:46–51.
- Wegary, D., Labuschagne, M.T., Vivek, B.S. 2011. Protein quality and endosperm modification of quality protein maize (*Zea mays* L.) under two contrasting soil nitrogen environments. *Field Crops Res.* 121:408–415.
- Yan, W., Hunt, L.A. 2002. Biplot of diallel data. *Crop Sci.* 42:21–30.

- 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.
- Zhang, Y., Kang, M. 1997. DIALLEL-SAS: A SAS program for Griffing's diallel analyses. *Agron. J.*, 89:176–182.
- Zhang, Y., Fan, X., Yao, W., Piepho, H.P., Kang, M.S. 2016. Diallel analysis of four maize traits and a modified heterosis hypothesis. *Crop Sci.* 56:1115–1126.