



APTITUD COMBINATORIA DE PROBADORES CON LÍNEAS DE MAÍZ DERIVADAS POR MEJORAMIENTO CONVERGENTE

COMBINING ABILITY OF TESTERS WITH INBRED LINES OF MAIZE DERIVED THROUGH CONVERGENT BREEDING

Luis Á. Ramírez-Casimiro¹, César del Á. Hernández-Galeno², Noel O. Gómez-Montiel²,
Fernando Castillo-González^{1*}, Ignacio Benítez-Riquelme¹ y Manuel Livera-Muñoz¹

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Genética, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. ²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Iguala, Iguala de la Independencia, Guerrero, México.

*Autor de correspondencia (fcastill@colpos.mx)

RESUMEN

El desarrollo de híbridos de maíz implica detectar combinaciones que expresen alta aptitud combinatoria para rendimiento de grano y características agronómicas. La aptitud combinatoria es un atributo importante que permite a los fitomejoradores incrementar la productividad mediante la selección de progenitores que expresen las mejores combinaciones. A partir del año 2015 se inició un esquema de mejoramiento convergente de líneas de maíz, el cual se centró en incorporar genes deseables por medio de retrocruzamientos de progenitores donantes hacia progenitores recurrentes. Las líneas utilizadas en este ensayo cuentan con más de 96.9 % de endogamia, resultado de tres retrocruzamientos y dos autofecundaciones. Con este antecedente, los objetivos del presente estudio fueron 1) evaluar cruza de prueba para rendimiento de grano y otras variables agronómicas en un conjunto de líneas de maíz obtenidas por mejoramiento convergente, 2) identificar las mejores combinaciones en rendimiento de grano y características agronómicas, y 3) seleccionar al mejor probador. Se evaluaron 13 líneas de maíz obtenidas por mejoramiento convergente y dos líneas élite originales, que se cruzaron con dos probadores (líneas endogámicas) utilizando un diseño experimental de bloques completos al azar, en dos localidades del estado de Guerrero, México establecidos en los ciclos agrícolas Primavera-Verano 2021 y Otoño-Invierno 2022/2023. Se detectaron diferencias significativas para todas las variables registradas en las fuentes de variación, localidades, probadores, líneas recobradas y en la interacción probadores $\times$ líneas recobradas, encontrándose que las líneas recobradas exhibieron amplia variación genética con los probadores. Se determinó que los cruzamientos L1 $\times$ P1, L1 $\times$ P2, L2 $\times$ P1, L2 $\times$ P2, L12 $\times$ P1, L12 $\times$ P2, L13 $\times$ P1 y L13 $\times$ P2 expresaron excelentes rendimientos de grano, así como buena expresión en los componentes del rendimiento. Se observó, que el rendimiento de grano tuvo una relación estrecha con los caracteres agronómicos de planta y mazorca, longitud de mazorca, largo, ancho y grosor de grano. Los dos probadores exhibieron una capacidad de combinación diferente para discriminar entre las líneas de prueba, siendo el probador P2 (LT156) el que produjo mayor variabilidad genética y cruzamientos con mayor rendimiento de grano.

Palabras clave: aptitud combinatoria, líneas recobradas, mejoramiento convergente, probador.

SUMMARY

The development of maize hybrids involves identifying combinations that express high combining ability for grain yield and agronomic characteristics.

Combining ability is an important attribute that allows plant breeders to increase productivity by selecting progenitors that express the best combinations. A scheme for convergent breeding of maize lines was initiated in 2015, which focused on incorporating desirable genes through backcrossing from donor to recurrent parents. The lines used in this trial had more than 96.9 % inbreeding, resulting from three backcrosses and two selfings. With this background, the objectives of the present study were 1) to evaluate testcrosses for grain yield and other agronomic traits in a set of maize lines obtained by convergent breeding, 2) to identify the best combinations in grain yield and agronomic characteristics, and 3) to select the best tester. Thirteen maize lines obtained by convergent improvement and two original elite lines, which were crossed with two testers (inbred lines) were evaluated using a randomized complete block experimental design, in two localities of the state of Guerrero, Mexico, established in the Spring-Summer 2021 and Fall-Winter 2022/2023 agricultural seasons. Significant differences were detected for all traits recorded between the sources of variation localities, testers, recovered lines and their interaction with testers, finding that the recovered lines exhibited wide genetic variation with the testers. It was determined that crosses L1 $\times$ P1, L1 $\times$ P2, L2 $\times$ P1, L2 $\times$ P2, L12 $\times$ P1, L12 $\times$ P2, L13 $\times$ P1 and L13 $\times$ P2 expressed excellent grain yields, as well as good expression in yield components. It was observed that grain yield had a close relationship with agronomic traits of plant and ear: ear length, kernel length, width and thickness. The two testers exhibited a different combining ability to discriminate between the test lines, with P2 (LT156) tester producing the highest genetic variability and crosses with higher grain yield.

Index words: combining ability, convergent breeding, recovered lines, tester.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es el cereal más importante cultivado a nivel mundial (FAOSTAT, 2022) en términos de volumen de producción, rendimiento y área cosechada; además, es el alimento y cultivo básico predominante en México (SIAP, 2022). En el año 2022, el rendimiento promedio de maíz en el estado de Guerrero, México fue de 2.9 t ha⁻¹, el cual es considerablemente inferior al rendimiento medio nacional (3.9 t ha⁻¹) y mundial (5.7 t ha⁻¹), respectivamente (FAOSTAT, 2022).

Se espera que el cambio climático global y las fluctuaciones ambientales afecten el crecimiento, desarrollo y rendimiento del maíz (Farooq *et al.*, 2023); asimismo, se incrementen las poblaciones de insectos plaga (Eigenbrode y Adhikari, 2023) y las enfermedades se vuelvan más persistentes (Miedaner y Juroszek, 2021). En este contexto, el mejoramiento genético y las prácticas de manejo agrícola serán fundamentales para garantizar e incrementar la productividad a largo plazo y, de esta manera, aprovechar plenamente los posibles beneficios potenciales de los cambios en los patrones climáticos (Ortiz *et al.*, 2023). Por lo tanto, es necesario desarrollar híbridos de maíz de mayor potencial de rendimiento, con características agronómicas favorables, tolerantes a factores bióticos y abióticos (Swarup *et al.*, 2021), que se adapten a sistemas agrícolas de pequeños productores, para garantizar la seguridad alimentaria a largo plazo.

El mejoramiento genético para la generación de híbridos generalmente requiere de la selección de genotipos en función del comportamiento *per se*, así como de su respuesta en cruza de prueba (Hölker *et al.*, 2019). Un desafío importante en el desarrollo de híbridos de maíz es combinar buenas características en un solo genotipo (Crispim-Filho *et al.*, 2020); por tanto, los métodos convencionales juegan un papel importante en el mejoramiento y desarrollo de nuevos cultivares híbridos (Lamichhane y Thapa, 2022), tal es el caso del mejoramiento convergente que, mediante el retrocruzamiento, procura mejorar cultivares élite para características controladas por un pequeño número de loci (Eller *et al.*, 2010). En maíz, ha sido ampliamente utilizado para transferir alelos monogénicos favorables de genotipos donantes a líneas endogámicas élite, pero también se han transferido mediante este método caracteres poligénicos de alta heredabilidad (Hospital, 2005), lo que ha permitido a los fitomejoradores acelerar el proceso de mejoramiento y, por lo tanto, desarrollar nuevos híbridos de maíz con características deseables.

Los híbridos de maíz experimentales que se desarrollan en los programas de fitomejoramiento son producto del cruzamiento entre una línea endogámica y un probador (Khaki *et al.*, 2020); por lo tanto, una elección apropiada de los progenitores es determinante en el éxito del desarrollo de los nuevos materiales (Elmyhun *et al.*, 2020). Por otro lado, los progenitores que formarán híbridos comerciales se seleccionan a partir de ensayos de rendimiento, para detectar líneas con buena aptitud combinatoria general (ACG) (de Jong *et al.*, 2023).

Los estudios de aptitud combinatoria se han realizado durante décadas en el mejoramiento de maíz (Zhou, 2021),

para identificar combinaciones híbridas promisorias, lo que permite a los fitomejoradores descartar material genético de bajo potencial, ahorrar tiempo y mejorar la eficiencia de la reproducción híbrida (Han *et al.*, 2020).

Bajo estos principios, Sprague y Tatum (1942) propusieron la descomposición de los valores híbridos en términos de ACG y aptitud combinatoria específica (ACE); asimismo, definieron la ACG de una línea como el desempeño promedio de cruzamientos que involucran a esta línea como progenitora y la ACE de un cruzamiento como la desviación del desempeño esperado con base en la ACG de ambas líneas parentales. En términos estadísticos, ACG y ACE corresponden al efecto principal de la línea y al efecto de interacción entre las dos líneas cruzadas, respectivamente.

Así, la evaluación de experimentos bajo un diseño genético se aplica para detectar líneas de alta ACG con potencial para producir nuevos híbridos que sean cada vez más productivos en comparación con los mejores híbridos disponibles. En el mismo ensayo se identifica la ACE, que permite detectar pares de líneas en combinaciones específicas con potencial para obtener el mejor híbrido altamente heterótico (Begna, 2021; Goncharenko *et al.*, 2023). Se considera que los progenitores que exhiben alta aptitud combinatoria promedio en todas sus cruza tienen buena ACG, mientras que, si la aptitud combinatoria se limita a una cruza en particular, se considera que el par de líneas tienen buena ACE; sin embargo, ambos efectos son complementarios para el desarrollo exitoso de híbridos (Adu *et al.*, 2022).

En México, los programas de mejoramiento genético han aprovechado muy poco los atributos deseables de las líneas élites de maíz. En el año 2015 el programa de maíz del INIFAP-CEIGUA empleó una estrategia de fitomejoramiento con la idea de mejorar los progenitores de los híbridos comerciales H-516, H-565 y H-568; se hizo énfasis en utilizar un esquema de mejoramiento convergente, el cual permite incorporar rasgos deseables de progenitores donantes (resistencia a enfermedades foliares, acame, precocidad, longitud de mazorca y tamaño de grano) hacia progenitores recurrentes.

Los objetivos de este estudio fueron 1) evaluar cruza de prueba para rendimiento de grano y otras características agronómicas en un conjunto de líneas de maíz obtenidas por mejoramiento convergente, 2) identificar las mejores combinaciones sobresalientes en rendimiento de grano y sus componentes, y 3) seleccionar al mejor probador de reducida base genética.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material genético

El esquema de mejoramiento convergente, empleado para derivar las líneas utilizadas en este estudio, se inició en el año 2015 en el INIFAP-Iguala, en Guerrero, México, y partió del cruzamiento entre el progenitor donante $\times$ progenitor recurrente; después, el híbrido F_1 se retrocruzó tres veces con el progenitor recurrente para recuperar los atributos deseables del progenitor recurrente; posteriormente, se continuó con dos autofecundaciones para obtener líneas recobradas con un 96.9 % de endogamia.

En este estudio se utilizaron 13 líneas de maíz obtenidas por mejoramiento convergente, dos líneas élite originales y dos probadores. Cuatro progenitores del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT): CML264-RC-CML311 (L2), CML549-RC-LT154 (L4), CML549-RC-GNF (L3) y CML596-RC-CML576 (L1), y 11 del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP): LT154-RC-CML576 (L6), LT154-RC-CML596 (L9), LT154-RC-CML596 (L5), LT154-RC-MH561 (L10), LT154-RC-MH561 (L7), LT154-RC-T47 (L8), T47-RC-LT154 (L11), T49-RC-B41 (L12), T49-RC-LT156 (L13), LT154 (T1) y T47 (T2). Los dos probadores utilizados fueron líneas con niveles de endogamia del 99.8 %. La línea CML576 (P1) proviene del CIMMYT y LT156 (P2) del INIFAP, ambas del grupo heterótico B y con un nivel de endogamia del 99.8 %. Cada una de las 15 líneas endogámicas se cruzó con los dos probadores para generar 30 cruas de prueba.

Generación de cruas de prueba

Las líneas recobradas seleccionadas para este estudio se sembraron en lotes aislados en los terrenos del Campo Experimental Iguala del INIFAP durante el ciclo agrícola otoño-invierno (O-I) 2021-2022. Todas las líneas se cruzaron con dos probadores comunes para producir híbridos simples recobrados. Los lotes se aislaron por distancia y fecha de siembra. La siembra del material genético fue en proporción 2:1 (dos surcos de líneas recobradas hembra, alternados con uno del probador macho). En etapa de floración se eliminaron en su totalidad las espigas de las líneas hembra; la eliminación fue manual, antes de la liberación de polen. Las cruas con el probador se consideraron exitosas cuando en la cosecha hubo disponibilidad de semilla, así como plantas y mazorcas sanas. Se excluyeron cruzamientos que mostraron un desempeño deficiente en cruas de prueba.

Sitios experimentales

Las evaluaciones agronómicas se realizaron en dos localidades del estado de Guerrero, México. En Tuxpan, municipio de Iguala (coordenadas 18° 23' 57" N, 99° 30' 26" O, altitud de 738 msnm, precipitación anual de 1018 mm, temperatura media anual de 25.6 °C, clima cálido subhúmedo y tipo de suelo Fluvisol); los ensayos se establecieron en el ciclo agrícola primavera-verano (P-V) 2022, mientras que en Santo Niño, municipio de Tlapehuala (coordenadas 18° 17' 25" N, 100° 19' 27" O, altitud de 371 msnm, precipitación anual de 1135 mm, temperatura media anual de 27.7 °C, clima cálido subhúmedo y suelo Fluvisol); la siembra se realizó en el ciclo agrícola otoño-invierno (O-I) 2022/2023.

Diseños de ensayos y prácticas culturales

Las 30 cruas de prueba se sembraron utilizando un diseño experimental de bloques completos al azar con tres repeticiones. En la localidad de Tuxpan, las unidades experimentales constaron de dos surcos de 5.0 m de largo, espaciamiento entre surcos de 0.80 m y entre matas de 0.42 m; se sembraron dos plantas por mata, 12 matas por surco y 48 plantas por unidad experimental, para alcanzar una densidad de población de 62,000 plantas ha^{-1} . En la localidad de Santo Niño, las unidades experimentales consistieron en un surco de 7.0 m de largo, espaciamiento entre surcos de 0.80 m y entre matas a 0.42 m; se establecieron dos plantas por mata, 17 matas por surco, y 34 plantas por unidad experimental, para obtener una densidad de población de 62,500 plantas ha^{-1} . En los ensayos de campo se realizaron prácticas culturales, incluyendo el control de plagas, enfermedades y fertilización, de acuerdo con lo recomendado en la Agenda Técnica Agrícola Guerrero (INIFAP, 2017) para el cultivo de maíz, establecido en ciclos agrícolas de riego y temporal.

Variables medidas

Los datos de los ensayos experimentales de cruas de prueba se registraron conforme a lo descrito por SNICS (2014); se incluye principalmente al rendimiento de grano (REND, $kg\ ha^{-1}$), calificación de planta, de enfermedad y de mazorca (CAPL, CANF y CAMZ, escala 1-5, donde 1 es el valor deseable y 5 indeseable).

Las variables medidas en las mazorcas fueron longitud de mazorca (LOMZ, cm), número de hileras de grano por mazorca (NHMZ), número de granos por hilera (NGRH), diámetro de mazorca (DIMZ, cm), largo, ancho y grosor de granos (LAGR, ANGR y GRGR, cm). Las unidades experimentales se cosecharon manualmente y el REND se estimó con base en el peso de campo de las mazorcas por

parcela; se desgranaron tres mazorcas representativas para determinar el porcentaje de humedad y porcentaje de grano. El rendimiento de grano se ajustó al 14 % de humedad con base en el peso total de mazorcas por parcela. Las calificaciones de plantas y enfermedades se estimaron a los 80 dds, mientras que el aspecto de mazorcas se apreció en el momento de la cosecha. En el momento de la cosecha se recogieron tres mazorcas representativas de cada parcela para medir LOMZ, NHMZ, NGRH, DIMZ, LAGR, ANGR y GRGR.

Análisis estadístico de datos

Se realizó análisis de varianza combinado para los datos obtenidos en las dos localidades del estudio, empleando el procedimiento GLM del Statistical Analysis System (SAS). Para interpretar la magnitud del efecto de las líneas recobradas y probadores se realizó una partición de las fuentes de variación de tratamientos en: líneas recobradas, probador y la interacción, probador $\times$ líneas recobradas, además de las interacciones con localidades: localidad $\times$ probador, localidad $\times$ líneas recobradas y una interacción triple: localidad $\times$ probador $\times$ líneas recobradas. Se realizó comparación de medias entre líneas recobradas y entre probadores, usando la diferencia mínima significativa (DMS) para discriminar las mejores combinaciones híbridas en función de su aptitud combinatoria. Estos análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SAS 9.4 (SAS Institute, 2019).

RESULTADOS

Análisis de varianza

El análisis de varianza combinado mostró diferencias significativas ($P \leq 0.01$) entre localidades para todos los atributos, excepto para diámetro de olote y grosor de grano. Para todas las variables se observaron diferencias significativas ($P \leq 0.01$ y $P \leq 0.05$) entre probadores y entre las cruza de prueba de las líneas recobradas, lo que denota una amplia variación genética entre líneas experimentales y entre probadores evaluados, lo que da la oportunidad de seleccionar los mejores híbridos de alto potencial de rendimiento de grano (Cuadro 1).

Para la interacción probador $\times$ líneas recobradas hubo significancia ($P \leq 0.01$ y $P \leq 0.05$) para la mayoría de las características cuantificadas, excepto para calificación de enfermedades y longitud de mazorca. Los cuadrados medios de calificación de mazorca, longitud y ancho de grano mostraron efectos significativos ($P \leq 0.01$ y $P \leq 0.05$) para la interacción localidades $\times$ probador, mientras que la interacción localidades $\times$ líneas recobradas sólo mostró significancia ($P \leq 0.05$) para rendimiento de grano,

calificación de enfermedad, diámetro de mazorca y longitud de grano. Por otro lado, el desempeño fenotípico de los cruzamientos no se vio significativamente afectado por la interacción de tres factores: localidades $\times$ probadores $\times$ líneas recobradas (Cuadro 1).

Aptitud combinatoria de las líneas recobradas y probadores

Las líneas L2, L1, L6, L11, L12, L13 y T1 en cruza con el probador P1, y L2, L1, L12, L13 y T1 con el probador P2 mostraron buenas combinaciones, contribuyendo en el incremento del rendimiento de grano. Entre las 15 líneas experimentales destacó la línea L12 en la cruza simple L12 $\times$ P2, por ser la de mayor rendimiento (10,042 kg ha⁻¹), superando con 1351 kg ha⁻¹ a la mejor línea, L11, cruzada con el probador P1 (L11 $\times$ P1) (Cuadro 2).

Para calificación de planta, el probador P1 exhibió mejores combinaciones con las líneas L2, L4 y L6, mientras que L2, L3, L4, L1, L6, L12 y L13 mostraron buena capacidad combinatoria con el probador P2, lo que indica que estos cruzamientos presentaron buena aptitud combinatoria para mejorar el aspecto de planta. Por otro lado, para calificación de enfermedad, todas las líneas recobradas exhibieron buenas combinaciones con el probador P1, excepto L3 y L6, mientras que con el probador P2 las líneas L3, L5, L8, L13, T1 y T2 no mostraron significancia en sus combinaciones. De manera similar, la mayoría de las líneas recobradas en cruza con el probador P1 y P2 mostraron buena capacidad combinatoria favorable para calidad de mazorca (CAMZ) (Cuadro 2).

Para LOMZ, las líneas L1, L2, L5, L7, L8, L9, L12, L13, T1 y T2 en cruza con el probador P1 y, L1, L2, L3, L4, L8, L13 y T2 con P2 mostraron buena aptitud combinatoria hacia mayor tamaño de mazorca, respecto a las demás cruza. La mayor aptitud combinatoria para número de hileras por mazorca se expresó en las cruza entre L2, L4, L1, L5, L10, L11 y T1 con el probador P1 y en L2, L3, L4, L1, L6, L5, L7, L8, L11, L12, L13 y T2 con el segundo probador (P2). Por otro lado, las líneas L2, L3, L4, L1, L6, L9, L5, L8, L11, T1 y T2 en cruza con el probador P1 y, L2, L1, L7, L8, L12, L13, T1 y T2 con P2 mostraron buena aptitud combinatoria, favoreciendo el mayor número de granos por hilera. Para diámetro de mazorca, las líneas recobradas L6, L9, L5, L7, L11, L12, L13, T1 y T2 en cruza con P1 y, L3, L6, L7, L12, L13 y T1 con P2 mostraron mayor diámetro de mazorca (Cuadro 2).

Para longitud de grano, las líneas L11, L13 y T1, en cruza con el probador P1 tuvieron buena expresión, contribuyendo de manera significativa en el incremento de este carácter, mientras que todas las líneas cruzadas con

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza combinado para 12 variables de las cruzas de prueba entre líneas recobradas y los probadores CML576 (P1) y LT156 (P2). Iguala P-V 2022 y Santo Niño 0-I 2022/2023, Guerrero, México.

Variables	Fuentes de variación									Media	CV (%)
	Loc	Rep(Loc)	Prob	LinRec	Prob × LinRec	Loc × Prob	Loc × LinRec	Loc × Prob × LinRec	Error		
REND	5034.49**	24.06	485.15**	52.43**	16.06*	0.38	15.29*	12.60	7.66.30	7911.22	11.06
CAPL	3.15**	0.01	0.07*	0.07**	0.06**	0.01ns	0.01ns	0.02ns	0.02	2.37	5.54
CANF	2.13**	0.05	0.10*	0.03*	0.03ns	0.00ns	0.04*	0.01ns	0.02	2.34	5.82
CAMZ	2.96**	0.07	0.71**	0.13**	0.08**	0.13*	0.05ns	0.04ns	0.04	2.35	8.05
LOMZ	82.48**	0.88	2.35*	2.23**	0.90ns	0.01ns	0.40ns	0.72ns	0.54	14.86	4.95
NHMZ	6.56**	0.48	31.56**	2.21**	2.45**	0.64ns	1.06ns	0.75ns	0.77	15.05	5.84
NGRH	421.67**	3.05	336.75**	11.50**	6.82*	9.01ns	2.95ns	5.94ns	3.80	36.65	5.32
DIMZ	1.73**	0.04	0.25**	0.08**	0.07**	0.07ns	0.04*	0.0ns	0.02	4.91	2.87
LOGR	0.537**	0.006	0.306**	0.015**	0.006**	0.013**	0.003**	0.002ns	0.001	1.27	2.84
ANGR	0.086**	0.001	0.025**	0.006**	0.003**	0.004ns	0.001ns	0.001ns	0.001	0.87	3.25
GRGR	0.001ns	0.001	0.032**	0.001**	0.001**	0.001ns	0.001ns	0.001ns	0.001	0.36	3.62
GL	1	4	1	14	14	1	14	14	116		

*, ** y ns: significativo ($P \leq 0.05$), altamente significativo ($P \leq 0.01$) y no significativo respectivamente, GL: grados de libertad, Loc: localidades, Prob: probadores, LinRec: líneas recobradas, REND: rendimiento, CAPL, CANF y CAMZ: calificación de planta, enfermedad y mazorca (escala 1-5) respectivamente, LOMZ: longitud de mazorca (cm), DIMZ: diámetro de mazorca (cm), LAGR, ANGR y GRGR: largo, ancho y grosor de grano (cm) respectivamente, CV: coeficiente de variación.

Cuadro 2. Promedios de cruzas de líneas de maíz recobradas con dos probadores para rendimiento de grano y otras características agronómicas combinados en localidades. Ciclo agrícola P-V 2022 y O-I 2022/2023, Guerrero, México.

Líneas	Líneas recobradas	REND	CAPL	CANF	CAMZ	LOMZ	NHMZ	NGRH	DIMZ	LAGR	ANGR	GRGR
L12	T49-RC-B41 × P2	10042*	2.1*	2.1*	2.0*	14.5	14.4*	38.8*	5.0*	1.4*	0.88	0.35*
T1	LT154 Original × P2	9318*	2.4	2.4	2.2*	14.4	14.0	39.2*	5.0*	1.4*	0.89	0.33
L1	CML596-RC-CML576 × P2	9292*	2.3*	2.3*	2.2*	15.5*	15.5*	41.2*	4.9	1.3*	0.86	0.34*
L13	T49-RC-LT156 × P2	9055*	2.3*	2.4	2.2*	15.3*	14.3*	39.4*	5.2*	1.4*	0.93*	0.36*
L2	CML264-RC-CML311 × P2	9045*	2.2*	2.3*	2.2*	15.7*	14.4*	40.3*	4.9	1.3*	0.87	0.35*
L4	CML549-RC-LT154 × P2	8711	2.2*	2.2*	2.2*	14.9*	14.6*	36.8	4.8	1.3*	0.87	0.35*
L11	T47-RC-LT154 × P1	8691*	2.4	2.3*	2.4*	14.1	16.2*	36.7*	5.0*	1.3*	0.84	0.34
L11	T47-RC-LT154 × P2	8480	2.4	2.3*	2.4	14.4	15.5*	38.0	4.9	1.3*	0.84	0.33
L3	CML549-RC-GNF × P2	8449	2.3*	2.4	2.3*	14.7*	15.5*	35.9	5.2*	1.3*	0.90*	0.36*

Cuadro 2. Continúa.

Líneas	Líneas recobradas	REND	CAPL	CANF	CAMZ	LOMZ	NHMZ	NGRH	DIMZ	LAGR	ANGR	GRGR
L7	LT154-RC-MH561 × P2	8295	2.4	2.3*	2.2*	14.0	15.4*	38.2*	5.1*	1.4*	0.88	0.33
L2	CML264-RC- CML311 × P1	8200*	2.3*	2.2*	2.3*	15.1*	16.1*	34.7*	4.7	1.2	0.82	0.37
L6	LT154-RC-CML576 × P1	8101*	2.3*	2.5	2.4*	14.3	15.3	34.5*	4.9*	1.2	0.84	0.38
L13	T49-RC-LT156 × P1	8067*	2.4	2.4*	2.4*	15.0*	14.9	33.4	5.1*	1.3*	0.91*	0.39*
L9	LT154-RC-CML596 × P2	7997	2.4	2.3*	2.2*	13.9	13.8	37.5	4.8	1.3*	0.88	0.33*
L6	LT154-RC-CML576 × P2	7914	2.3*	2.3*	2.5	14.2	14.1*	36.7	5.1*	1.3*	0.94*	0.34*
L12	T49-RC-B41 × P1	7784*	2.5	2.4*	2.5	15.8*	15.2	34.1	4.9*	1.2	0.86	0.38
L1	CML596-RC- CML576 × P1	7710*	2.4	2.3*	2.3*	15.1*	16.6*	36.1*	4.8	1.2	0.80	0.37
T1	LT154 Original × P1	7666*	2.4	2.3*	2.5	15.2*	16.9*	36.1*	4.9*	1.3*	0.83	0.37
T2	T47 Original × P2	7556	2.6	2.4	2.5	15.6*	14.1*	38.7*	4.8	1.3*	0.90*	0.36*
L5	LT154-RC-CML596 × P2	7541	2.4	2.4	2.5	14.0	14.8*	37.2	4.9	1.3*	0.89	0.34*
L8	LT154-RC-T47 × P2	7413	2.6	2.4	2.6	15.7*	14.6*	38.6*	4.8	1.2	0.85	0.36*
L10	LT154-RC-MH561 × P2	7350	2.4	2.3*	2.5	14.2	14.0	37.0	4.8	1.3*	0.88	0.34*
L9	LT154-RC-CML596 × P1	7333	2.4	2.4*	2.4*	14.9*	15.1	37.2*	5.0*	1.2	0.87	0.36
L4	CML549-RC-LT154 × P1	7078	2.3*	2.3*	2.3*	14.6	15.7*	34.2*	4.8	1.2	0.86	0.37
T2	T47 Original × P1	7012	2.4	2.4*	2.5	15.8*	14.7	35.2*	4.9*	1.2	0.90*	0.41*
L5	LT154-RC-CML596 × P1	6911	2.4	2.3*	2.3*	15.2*	15.7*	36.0*	4.9*	1.2	0.85	0.36
L7	LT154-RC-MH561 × P1	6744	2.5	2.3*	2.4*	15.1*	15.4	33.9	4.9*	1.2	0.87	0.38
L10	LT154-RC-MH561 × P1	6627	2.4	2.3*	2.5	14.5	16.1*	32.9	4.8	1.2	0.82	0.38
L8	LT154-RC-T47 × P1	6523	2.4	2.4*	2.5*	15.5*	14.8	36.8*	4.7	1.2	0.87	0.39*
L3	CML549-RC-GNF × P1	6437	2.4	2.5	2.6	14.6	13.7	34.4*	4.7	1.2	0.92*	0.37
	DMS (0.05)	1239	0.2	0.2	0.3	1.1	1.4	3	0.2	0.1	0.04	0.02

*: medias del primer grupo significativo con nivel de probabilidad estadística del $P \leq 0.05$, REND: rendimiento (kg ha^{-1}); CAPL, CANF y CAMZ: calificación de planta, enfermedad y mazorca (escala 1-5) respectivamente, LOMZ: longitud de mazorca (cm), DIMZ: diámetro de mazorca (cm), LAGR, ANGR y GRGR: largo, ancho y grosor de grano (cm) respectivamente, P1: probador CML576, P2: probador LT156, T1 y T2: cruza testigo.

el probador P2 también mostraron buenas combinaciones para este atributo.

Por otra parte, las líneas L3, L13 y T2 en cruza con el probador P1 y, L3, L6, L13 y T2 con el probador P2 mostraron granos más anchos. En cuanto al espesor de grano, la mayoría de las líneas exhibieron buena capacidad combinatoria en cruza con el probador P2, mientras que con el probador P1, sólo se identificaron tres líneas sobresalientes (T2, L13 y L8) (Cuadro 2).

La evaluación de cruza de prueba entre probadores y líneas recobradas reveló que las combinaciones con P2 presentaron, en promedio, mejores rendimientos de grano; asimismo, amplia variabilidad genética en los componentes del rendimiento. De igual manera, el probador P2 mostró eficiencia al discriminar líneas en más de un carácter cuantificable. La aptitud combinatoria general para rendimiento de grano y los componentes relacionados con el rendimiento cuantificados en este estudio, indicaron que el mejoramiento convergente fue efectivo al incrementar el potencial productivo de las líneas recobradas; sin embargo, una selección adecuada de líneas mejoradas considera la detección de aquellas que exhiban alto potencial de rendimiento, así como estabilidad fenotípica en caracteres deseables.

Entre los atributos estudiados dentro de cada probador, las cruza de las líneas recobradas mostraron buen comportamiento, tanto en rendimiento de grano, como en calificación de planta, enfermedad y mazorca, longitud de mazorca, número de hileras y granos por hileras, diámetro y longitud de mazorca, ancho y grosor de grano. Por otra parte, las líneas que exhibieron buena capacidad combinatoria para rendimiento de grano y componentes del rendimiento serán progenitores deseables para el desarrollo de nuevos híbridos, mismos que también pueden utilizarse para emprender un nuevo esquema de mejoramiento de líneas, ya que estos progenitores pueden aportar alelos favorables complementarios a otras líneas que tengan esas limitantes.

DISCUSIÓN

El desarrollo exitoso en la formación de un maíz híbrido de alto potencial de rendimiento y características favorables depende en gran medida del buen diseño de los esquemas de mejoramiento genético y de la implementación de procesos eficientes de selección de los progenitores, en función de su aptitud combinatoria. En el presente estudio se observaron diferencias significativas en la fuente de variación localidades, probadores y líneas recobradas, así como para la interacción probadores $\times$ líneas recobradas

para todas las variables. La variación genética entre probadores y entre líneas recobradas permite la detección de combinaciones híbridas promisorias. De manera consistente, Amegbor *et al.* (2020), Nadeem *et al.* (2023) y Arellano-Vázquez *et al.* (2023) encontraron diferencias significativas en características agronómicas de líneas de maíz al ser evaluadas a través de sitios experimentales (localidades).

La generación de híbridos de alto potencial de rendimiento y rasgos agronómicos favorables está determinada por la selección de los progenitores (Bocianowski *et al.*, 2023). Un objetivo de este estudio fue identificar combinaciones híbridas sobresalientes en rendimiento de grano, atributos agronómicos y componentes al rendimiento. Los resultados indicaron que los cruzamientos L1 $\times$ P1, L6 $\times$ P1, L11 $\times$ P1 y L13 $\times$ P1 exhibieron un rendimiento significativamente mayor que los híbridos testigo (LT154 $\times$ P1, LT154 $\times$ P1, T47 $\times$ P1 y T47 $\times$ P2) considerando al probador P1, mientras que con el probador P2, sólo la cruza L12 $\times$ P2 mostró buen rendimiento de grano y características agronómicas favorables y significativas. Por otro lado, es conveniente mencionar que entre las cruza con el probador P2, las líneas L4, L2, L13, L1 y T1 mostraron alto rendimiento de grano, diferentes de la cruza L12 $\times$ P2; sin embargo, superan a las cruza con mejor rendimiento del probador P1; esto indica la alta capacidad combinatoria de estas líneas que forman dichas cruza y, por tanto, deben considerarse como candidatos promisorios para posible uso comercial después de evaluaciones adicionales en múltiples ambientes (Ismail *et al.*, 2023). Con base en este resultado, en la literatura se reportan cruzamientos de buena aptitud combinatoria, que han contribuido en el incremento del rendimiento de grano y en la mejora de rasgos agronómicos (Kamara *et al.*, 2020; Sun *et al.*, 2018) en ambientes de estrés por sequía y calor (Nasser *et al.*, 2020; Osuman *et al.*, 2022); asimismo, combinaciones híbridas de ciclo precoz y tolerantes a enfermedades foliares (Badu-Apraku *et al.*, 2021; Knoll *et al.*, 2023).

El uso de probadores apropiados es importante para el éxito de los programas de hibridación (Zebire *et al.*, 2020); por tanto, un probador adecuado debe proporcionar una clasificación correcta del mérito relativo de las líneas bajo prueba (Hallauer *et al.*, 2010). En el presente estudio, el probador P2 clasificó e identificó mejor a las líneas obtenidas por mejoramiento convergente hacia caracteres de planta y mazorca, como longitud de mazorca, número de hileras y granos por hilera, diámetro de mazorca, largo, ancho y grosor de grano; asimismo, las combinaciones híbridas con el probador P2 exhibieron los mayores rendimientos de grano, aunque éstos no fueron significativamente separados por el análisis estadístico; por

lo tanto, P2 se puede considerar como el mejor probador en la evaluación de las líneas recobradas, puesto que permitió formar cruzamientos de alto rendimiento junto con otras características agronómicas deseables. En esta perspectiva, Annor y Badu-Apraku (2016), Badu-Apraku et al. (2020) y Karjagi et al. (2023) identificaron probadores endogámicos en ensayos de aptitud combinatoria de líneas de maíz.

Por otra parte, los resultados de comparación de medias entre líneas recobradas y probadores mostraron que el rendimiento de grano se relacionó con los componentes del rendimiento y con los rasgos agronómicos medidos; esto era de esperarse, puesto que las líneas fueron sometidas a un mejoramiento convergente para mejorar varias características. De acuerdo con este resultado, Al-Kahtani et al. (2023) informaron que la mejora de un carácter en específico resultará directamente en un cambio significativo en otros caracteres correlacionados debido a su fuerte asociación. La relación entre la aptitud combinatoria, el rendimiento y sus componentes y rasgos agronómicos también fueron demostrados por Chiuta y Mutengwa (2020), Ravikesavan et al. (2020) y Bispo et al. (2023). Por otro lado, el mejor probador identificado en este estudio podría usarse para clasificar líneas de maíz, mediante pruebas tempranas que aún no han sido evaluadas mediante estudios de aptitud combinatoria.

CONCLUSIONES

Existe amplia variación genética entre los cruzamientos para todas las variables medidas. A través del mejoramiento convergente es posible desarrollar líneas de maíz que mantengan buena aptitud combinatoria y formen híbridos de maíz con alto potencial de rendimiento y características agronómicas superiores a las líneas originales que forman los híbridos comerciales de partida. La aptitud combinatoria exhibida entre las líneas mejoradas y los probadores (líneas endogámicas) brinda la oportunidad de seleccionar combinaciones que pueden explotarse como híbridos de cruce simple para su uso comercial. El probador P2 discriminó mejor las líneas en función de su aptitud combinatoria del rendimiento de grano y caracteres de importancia agronómica.

BIBLIOGRAFÍA

- Adu G. B., B. Badu-Apraku, R. Akromah and F. J. Awuku (2022) Combining abilities and heterotic patterns among early maturing maize inbred lines under optimal and *Striga*-infested environments. *Genes* 13:2289, <https://doi.org/10.3390/genes13122289>
- Al-Kahtani S. N., M. M. Kamara, E. K. A. Taha, N. El-Wakeil, A. Aljabr and K. M. Mousa (2023) Combining ability and inheritance nature of agronomic traits and resistance to pink stem (*Sesamia cretica*) and purple-lined (*Chilo agamemnon*) borers in maize. *Plants* 12:1105, <https://doi.org/10.3390/plants12051105>
- Amegbor I. K., B. Badu-Apraku, G. B. Adu, J. Adjepong-Danquah and J. Toyinbo (2020) Combining ability of extra-early maize inbreds derived from a cross between maize and *Zea diploperennis* and hybrid performance under contrasting environments. *Agronomy* 10:1069, <https://doi.org/10.3390/agronomy10081069>
- Annor B. and B. Badu-Apraku (2016) Gene action controlling grain yield and other agronomic traits of extra-early quality protein maize under stress and non-stress conditions. *Euphytica* 212:213-228, <https://doi.org/10.1007/s10681-016-1757-4>
- Arellano-Vázquez J. L., G. F. Gutiérrez-Hernández, L. F. Ceja-Torres, E. Flores-Gómez, E. García-Ramírez, F. R. Quiroz-Figueroa and P. Vázquez-Lozano (2023) Combining ability and reciprocal effects for the yield of elite blue corn lines from the central highlands of Mexico. *Plants* 12:3861, <https://doi.org/10.3390/plants12223861>
- Badu-Apraku B., M. A. B. Fakorede, A. O. Talabi, M. Oyekunle, M. Aderounmu, A. F. Lum, ... and J. O. Toyinbo (2020) Genetic studies of extra early provitamin A maize inbred lines and their hybrids in multiple environments. *Crop Science* 60:1325-1345, <https://doi.org/10.1002/csc2.20071>
- Badu-Apraku B., F. A. Bankole, M. A. Fakorede, G. Ogbe, R. Bandyopadhyay and A. Ortega-Beltran (2021) Combining ability and heterotic grouping of turcicum resistant early maturing maize inbreds. *Agronomy Journal* 113:3560-3577, <https://doi.org/10.1002/ajj2.20746>
- Begna T. (2021) Combining ability and heterosis in plant improvement. *Open Journal of Plant Science* 6:108-117, <https://doi.org/10.17352/ojps.000043>
- Bispo R. B., A. T. A. Junior, S. H. Kamphorst, V. J. Lima, G. F. Pena, T. O. Santos, ... and S. Khan (2023) Assessing combining abilities of popcorn inbred lines for agronomic and root traits under contrasting water conditions: towards developing drought-tolerant genotypes. *Stresses* 3:586-604, <https://doi.org/10.3390/stresses3030041>
- Bocianowski J., K. Nowosad and H. Bujak (2023) Meta-analysis of influence of diversity of parental forms on heterosis and specific combining ability of their hybrids. *Applied Sciences* 13:8704, <https://doi.org/10.3390/app13158704>
- Chiuta N. E. and C. S. Mutengwa (2020) Combining ability of quality protein maize inbred lines for yield and morpho-agronomic traits under optimum as well as combined drought and heat-stressed conditions. *Agronomy* 10:184, <https://doi.org/10.3390/agronomy10020184>
- Crispim-Filho A. J., F. P. dos Santos, J. F. N. Pinto, P. G. S. Melo, E. F. dos Reis and M. P. Mendes-Resende (2020) Dealing with multiple traits in maize: a new approach for selecting progenies. *Crop Science* 60:3151-3165, <https://doi.org/10.1002/csc2.20292>
- de Jong G., O. Powell, G. Gorjanc, J. M. Hickey and R. C. Gaynor (2023) Comparison of genomic prediction models for general combining ability in early stages of hybrid breeding programs. *Crop Science* 63:3338-3355, <https://doi.org/10.1002/csc2.21105>
- Eigenbrode S. D. and S. Adhikari (2023) Climate change and managing insect pests and beneficials in agricultural systems. *Agronomy Journal* 115:2194-2215, <https://doi.org/10.1002/ajj2.21399>
- Eller M. S., G. A. Payne and J. B. Holland (2010) Selection for reduced Fusarium ear rot and fumonisin content in advanced backcross maize lines and their topcross hybrids. *Crop Science* 50:2249-2260, <https://doi.org/10.2135/cropsci2009.11.0683>
- Elmyhun M., C. Liyew, A. Shita and M. Andualem (2020) Combining ability performance and heterotic grouping of maize (*Zea mays*) inbred lines in testcross formation in Western Amhara, Northwest Ethiopia. *Cogent Food & Agriculture* 6:1727625, <https://doi.org/10.1080/23311932.2020.1727625>
- FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nations (2022) Statistical database. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (January 2024).
- Farooq A., N. Farooq, H. Akbar, Z. U. Hassan and S. H. Gheewala (2023) A critical review of climate change impact at a global scale on cereal crop production. *Agronomy* 13:162, <https://doi.org/10.3390/agronomy13010162>
- Goncharenko A. A., A. V. Makarov, T. V. Semenova, V. N. Tochilin, N. A. Clochko, M. S. Goncharenko and O. A. Krakhmaleva (2023) Evaluation of combining abilities of winter-rye inbred lines with the topcross

- method. *Russian Agricultural Sciences* 49:119-126, <https://doi.org/10.3103/S1068367423020052>
- Hallauer A. R., M. J. Carena and J. B. Miranda-Filho (2010) Testers and combining ability. In: Quantitative Genetics in Maize Breeding. A. R. Hallauer, M. J. Carena and J. B. Miranda-Filho (eds.). 3rd edition. Springer, New York, USA. pp:383-423, https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0766-0_8
- Han Y. Y., K. Y. Wang, Z. Q. Liu, S. H. Pan, X. Y. Zhao, Q. Zhang and S. F. Wang (2020) Research on hybrid crop breeding information management system based on combining ability analysis. *Sustainability* 12:4938, <https://doi.org/10.3390/su12124938>
- Hölker A. C., W. Schipprack, H. F. Utz, W. S. Molenaar, and A. E. Melchinger (2019) Progress for testcross performance within the flint heterotic pool of a public maize breeding program since the onset of hybrid breeding. *Euphytica* 215:50, <https://doi.org/10.1007/s10681-019-2370-0>
- Hospital F. (2005) Selection in backcross programmes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 360:1503-1511, <https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1670>
- INIFAP, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícola y Pecuarías (2017) Agenda Técnica Agrícola de Guerrero. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícola y Pecuarías. Ciudad de México. México. 116 p.
- Ismail M. R., H. A. Aboyousef, M. A. A. Abd-Elaziz, A. A. M. Afife and M. S. Shalof (2023) Diallel analysis of maize inbred lines for estimating superiority and combining ability. *African Crop Science Journal* 31:417-425, <https://doi.org/10.4314/acsj.v31i4.4>
- Kamara M. M., M. Rehan, K. M. Ibrahim, A. S. Alsohim, M. M. Elsharkawy, A. M. S. Kheir, ... and M. A. El-Esawi (2020) Genetic diversity and combining ability of white maize inbred lines under different plant densities. *Plants* 9:1140, <https://doi.org/10.3390/plants9091140>
- Karjagi C. G., R. K. Phagna, S. Neelam, J. C. Sekhar, S. B. Singh and K. R. Yathish (2023) Identification of best testers for heterotic grouping of tropical maize inbred lines using GGE biplot. *Crop Science* 63:2033-2049, <https://doi.org/10.1002/csc2.20968>
- Khaki S., Z. Khalilzadeh and L. Wang (2020) Predicting yield performance of parents in plant breeding: a neural collaborative filtering approach. *PLoS ONE* 15:e0233382, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233382>
- Knoll J. E., T. J. Perla, M. D. Krakowsky and B. Guo (2023) Combining ability of experimental maize lines for yield and aflatoxin in the Southeastern United States. *Crop Science* 63:2793-2806, <https://doi.org/10.1002/csc2.21050>
- Lamichhane S. and S. Thapa (2022) Advances from conventional to modern plant breeding methodologies. *Plant Breeding and Biotechnology* 10:1-14, <https://doi.org/10.9787/PBB.2022.10.1.1>
- Miedaner T. and P. Juroszek (2021) Global warming and increasing maize cultivation demand comprehensive efforts in disease and insect resistance breeding in North Western Europe. *Plant Pathology* 70:1032-1046, <https://doi.org/10.1111/ppa.13365>
- Nadeem T., I. H. Khalil and S. A. Jadoon (2023) Combining ability analysis for maturity and yield attributes in sweet corn across environments. *Sabao Journal of Breeding & Genetics* 55:319-328, <http://doi.org/10.54910/sabao2023.55.2.5>
- Nasser L. M., B. Badu-Apraku, V. E. Gracen and H. N. Mafouasson (2020) Combining ability of early-maturing yellow maize inbreds under combined drought and heat stress and well-watered environments. *Agronomy* 10:1585, <https://doi.org/10.3390/agronomy10101585>
- Ortez O. A., A. J. Lindsey, P. R. Thomison, J. A. Coulter, M. P. Singh, D. R. Carrijo, ... and E. Y. Danquah (2023) Corn response to long term seasonal weather stressors: a review. *Crop Science* 63:3210-3235, <https://doi.org/10.1002/csc2.21101>
- Osuman A. S., B. Badu-Apraku, B. E. Ifie, C. Nelimor, P. Tongoona, E. Obeng-Bio, ... and E. Y. Danquah (2022) Combining ability and heterotic patterns of tropical early-maturing maize inbred lines under individual and combined heat and drought environments. *Plants* 11:1365, <https://doi.org/10.3390/plants11101365>
- Ravikesavan R., B. Suhasini, A. Yuvaraja and N. KumariVinodhana (2020) Assessment of combining ability for yield and yield contributing traits in sweet corn. *Electronic Journal of Plant Breeding* 11:224-229, <https://doi.org/10.37992/2020.1101.038>
- SAS Institute (2019) The SAS System for Windows, Release 9.4. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA.
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2022) Anuario estadístico de la producción agrícola. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Ciudad de México. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (Enero 2024).
- SNICS, Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (2014) Maíz (*Zea mays* L.). Guía Técnica para la Descripción Varietal. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación-SNICS. Tlalnepantla. Estado de México. México. 39 p.
- Sprague G. F. and L. A. Tatum (1942) General vs. specific combining ability in single crosses of corn. *Agronomy Journal* 34:923-932, <https://doi.org/10.2134/agronj1942.00021962003400100008x>
- Sun J. Y., J. L. Gao, X. F. Yu, J. Liu, Z. J. Su, Y. Feng and D. Wang (2018) Combining ability of sixteen USA maize inbred lines and their outbreeding prospects in China. *Agronomy* 8:281, <https://doi.org/10.3390/agronomy8120281>
- Swarup S., E. J. Cargill, K. Crosby, L. Flagel, J. Kniskern and K. C. Glenn (2021) Genetic diversity is indispensable for plant breeding to improve crops. *Crop Science* 61:839-852, <https://doi.org/10.1002/csc2.20377>
- Zebire D., A. Menkir, V. Adetimirin, W. Mengesha, S. Meseka and M. Gedil (2020) Effectiveness of yellow maize testers with varying resistance reactions to *Striga hermonthica* for evaluating the combining ability of maize inbred lines. *Agronomy* 10:1276, <https://doi.org/10.3390/agronomy10091276>
- Zhou M. (2021) General and specific combining ability for cane yield and implications for sugarcane breeding. *Crop Science* 61:539-551, <https://doi.org/10.1002/csc2.20356>