

**Caracterización de la supervivencia foliar en una población de líneas  
endocriadas recombinantes de maíz (*Zea mays* L.)**

Tesina

del Alumno:

**JUAN IGNACIO AMAS**

Este trabajo ha sido presentado como requisito  
para la obtención del título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO**

Carrera: Ingeniería Agronómica

Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales  
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires

Pergamino, 8 de Octubre de 2015

**Caracterización de la supervivencia foliar en una población de líneas  
endocriadas recombinantes de maíz (*Zea mays* L.)**

Tesina  
del Alumno

**JUAN IGNACIO AMAS**

Aprobada por el Tribunal Evaluador de Tesina

.....  
Ing. Agr. MSc.  
Defacio, Raquel

.....  
Dra.  
Rossini, María

.....  
Ing. Agr.  
Varea, Ivana

.....  
Ing. Agr. MSc. Mroginski, Erika  
Director

.....  
Lic. Molins, Luciano  
Codirector

Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales  
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires

## **AGRADECIMIENTOS**

- A toda mi familia, por su amor, su confianza, por estar siempre y ser el pilar fundamental que sostiene mi vida. En especial a mis abuelos Raúl, Ana, Tito y Magdalena.
- A mis amigos, los de ayer, hoy y siempre.
- A Erika Mroginski, por confiar en mí, por su guía, su infinita paciencia y su ayuda en la elaboración de este trabajo.
- A Luciano Molins, por su confianza, su amistad, compañerismo y ayuda tanto en el trabajo de campo como en la escritura.
- A Federico Gloriani, por su amistad y ayuda a lo largo de todo el trabajo de campo y procesamiento de muestras.
- Al INTA Pergamino por hacer posible la realización de este trabajo. En especial a los chicos de Biotecnología, Maíz y Ecofisiología por su ayuda, predisposición y buena onda durante mi estadía.
- A la UNNOBA, por brindarme la posibilidad de formarme y por hacer de esta etapa la mejor de mi vida.
- A mis amigos y compañeros de Agronomía y Genética por todos los momentos compartidos en estos años. En especial a Hugo, Thomas, Vicky, Irina, Nacho, Gonza, Manu, Anto, Diana y Estefi.

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>5</b>
1. El maíz: Importancia y producción en Argentina.....	5
2. Mejoramiento genético en maíz.....	5
3. Senescencia foliar y <i>stay-green</i> .....	7
4. Factores determinantes de la senescencia foliar.....	8
5. Mejoramiento de la interceptación de radiación en maíz.....	10
6. Antecedentes del grupo de trabajo.....	10
7. Hipótesis.....	12
8. Objetivo general.....	12
9. Objetivos específicos.....	12
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>13</b>
1. Material vegetal.....	13
2. Descripción y conducción del experimento.....	14
3. Evaluaciones fenotípicas.....	15
4. Análisis estadístico.....	18
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>20</b>
1. Condiciones meteorológicas.....	20
2. Normalidad de variables.....	22
3. Estadísticos descriptivos y análisis de varianza.....	23
4. Genotipos parentales.....	24
5. Patrón de senescencia foliar.....	26
6. Correlaciones entre variables.....	27
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>32</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>37</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>38</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>40</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>45</b>

## **INTRODUCCIÓN**

### **1. El maíz: Importancia y producción en Argentina**

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cultivos de grano más utilizados por el hombre. Es un cereal de gran importancia económica a nivel mundial, ya sea como alimento humano y para el ganado o como fuente de un gran número de productos industriales. En los últimos años una parte importante de la producción de maíz está siendo derivada a la obtención de biocombustibles (GBEP-FAO, 2008). En Argentina es el segundo cultivo con mayor superficie de siembra después de la soja (*Glycine max* L. Merr.). En la campaña 2013/2014 se sembraron 6,1 millones de hectáreas, de las cuales se cosecharon 4,83 millones. La producción nacional de maíz fue de 33,1 millones de toneladas, con un rendimiento promedio de 6.841 kilogramos por hectárea (MinAgri, 2015). La región templada comprendida entre los 32° y 35° latitud Sur y 58° a 64° longitud Oeste, es la principal zona de concentración de la producción de maíz en Argentina (Hall *et al.*, 1992). Buenos Aires y Córdoba son las provincias más importantes que comprenden dicha región, con 1,03 y 1,67 millones de hectáreas cosechadas en la campaña mencionada respectivamente, concentrando el 57% de la producción nacional (19 millones de toneladas) (MinAgri, 2015).

Se estima que para el año 2020 la demanda mundial de maíz será de 784 millones de toneladas aproximadamente. Asumiendo que no habrá un incremento en el área de producción, para cubrir esta demanda se necesitará una tasa de crecimiento anual en la producción de 1,5% aproximadamente (Duvick & Cassman, 1999) y, por lo tanto, será necesario aumentar los rendimientos principalmente a través de un mejor aprovechamiento de los recursos.

### **2. Mejoramiento genético en maíz**

El incremento del rendimiento en granos del cultivo de maíz a través de los años es consecuencia de la mejora genética de los cultivares disponibles, la adopción de mejores prácticas agronómicas y de la interacción entre dichos factores (Duvick, 1992). Si bien diversos autores difieren en su postura en cuanto

a la proporción de este incremento que es explicado por la mejora genética, todos han determinado que los nuevos materiales tienen un comportamiento superior a los cultivados en años anteriores (Duvick & Cassman, 1999; Tollenaar & Wu, 1999; Eyhéabide & Damilano, 2001; Tollenaar & Lee, 2002, 2006; Luque *et al.*, 2006). En Estados Unidos, Duvick (2005) reportó una ganancia genética promedio de rendimiento de  $74 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$  desde 1930 hasta 1991 en un experimento realizado en el cinturón maicero. En la región templada argentina, Eyhéabide & Damilano (2001) informaron un incremento de  $107 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$  desde 1979 hasta 1998. A su vez, detectaron una mayor ganancia genética durante la segunda década bajo estudio ( $249 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$  de 1988 a 1998), probablemente asociada en parte a la introducción de los híbridos simples en el país durante los años 1990. Por su parte, Luque *et al.* (2006) determinaron una ganancia genética de  $132 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$  en un experimento de 2 años con 7 híbridos que comprendió el período 1965-1997 en la Estación Experimental Agropecuaria INTA Pergamino. A su vez, estos autores reportaron un incremento del rendimiento potencial de los materiales adaptados a esta región a través del período en estudio, es decir, un aumento en la producción de granos bajo condiciones no limitantes en cuanto a la disponibilidad de recursos (baja densidad poblacional). En contraste, estudios realizados en Estados Unidos sostienen que el rendimiento potencial por planta de los híbridos norteamericanos, cultivados bajo condiciones bióticas y abióticas no limitantes, parece no haber incrementado desde los años 1930s hasta los 1990s (Duvick & Cassman, 1999; Evans & Fischer, 1999). Tollenaar & Lee (2002) sostienen que el aumento de rendimiento en maíz está asociado al incremento de la tolerancia a diferentes tipos de estrés en los nuevos híbridos, en parte, como resultado de la selección de los genotipos por estabilidad de producción. De esta manera, distintos atributos fisiológicos determinantes del rendimiento del cultivo han ido cambiando a través del tiempo permitiendo alcanzar mayores niveles de productividad. Entre ellos, se ha reportado una mayor persistencia del área foliar verde en los nuevos genotipos bajo distintas condiciones de producción (Duvick & Cassman, 1999; Luque *et al.*, 2006).

La obtención de altos rendimientos de maíz en ambientes de alta productividad depende no sólo de la fijación de un elevado número de granos por unidad de superficie sino también de la fuente fotosintética suficiente para el llenado de los mismos (Luque *et al.*, 2006). La fotosíntesis y por lo tanto la producción de biomasa están directamente asociadas con la intercepción de radiación por el canopeo (Muchow *et al.*, 1990). En consecuencia, la duración del área foliar verde es una característica importante que influye en la eficiencia de la captación de luz, permitiendo además prolongar la producción de fotoasimilados para el llenado de los granos. Tollenaar & Aguilera (1992) han demostrado que la diferencia en la acumulación total de materia seca aérea entre híbridos nuevos y viejos es atribuible a la mayor producción de biomasa de los nuevos materiales durante el llenado de granos.

### **3. Senescencia foliar y *stay-green***

La senescencia foliar es un proceso de muerte progresiva y programada de las células que conduce a la pérdida de funcionalidad de las hojas durante la etapa final del desarrollo del cultivo, el cual está regulado genéticamente y es influenciado por el ambiente. Se caracteriza por la degradación de la clorofila, la consecuente disminución de la capacidad fotosintética y, visualmente, por el amarillamiento (clorosis) de las láminas de las hojas seguido por su necrosis.

El término “*stay-green*” se refiere a la manifestación externa de la senescencia foliar retrasada o la resistencia a la muerte prematura a partir de causas no identificadas (Duvick, 2005), lo que permite el mantenimiento del área foliar verde durante el llenado de los granos. Jiang *et al.* (2004) establecieron una clasificación para los genotipos *stay-green* en dos grupos: *stay-green* funcionales y no funcionales. Los genotipos funcionales han recibido mucha atención por su mayor capacidad fotosintética en el estadio final del ciclo de cultivo con respecto a genotipos normales debido al retraso en el inicio de la senescencia foliar y/o a una menor tasa de dicho proceso (Thomas & Howarth, 2000), y por el consecuente mayor rendimiento en grano (Zheng *et al.*, 2009). Por otra parte, los genotipos no

funcionales se caracterizan por carecer de actividad fotosintética aunque las hojas permanecen verdes en el estadio final del desarrollo de la planta.

En cultivos estivales como el girasol y el maíz, la senescencia comienza previo al completo desarrollo foliar y progresa a una tasa mayor durante el llenado de los granos (Muchow & Carberry, 1989; Sadras *et al.*, 2000). En el caso de maíz, Borrás *et al.* (2003) han determinado que el proceso de senescencia foliar presenta dos fases con tasas distintas, ajustándose a un modelo bilinear. La primera fase comienza a los 400-450 °Cdía desde la siembra y finaliza a los 100 °Cdía después de la floración femenina. Durante esta etapa, la tasa de senescencia es baja (0,84 a 2,03 cm<sup>2</sup>.pl<sup>-1</sup>.°Cdía<sup>-1</sup>). La segunda fase se extiende desde los 100 °Cdía postfloración hasta la madurez fisiológica del cultivo y presenta una tasa notablemente mayor (2,24 a 7,84 cm<sup>2</sup>.pl<sup>-1</sup>.°Cdía<sup>-1</sup>). El comienzo de esta etapa es coincidente con el inicio del llenado efectivo de los granos (Borrás & Otegui, 2001).

El perfil vertical de la senescencia foliar en esta especie se caracteriza por la aparición inicial de los síntomas en las hojas más viejas (basales), los cuales van avanzando hacia arriba en la planta (dirección acrópeta). Más tarde en el llenado de granos, las hojas más jóvenes (superiores) comienzan a senescer y la aparición de los síntomas prosigue hacia abajo (dirección basípeta). De esta manera, ocurre un proceso de muerte simultánea de hojas en dirección acrópeta y basípeta en la planta, el cual finaliza con las hojas centrales (cercanas a la espiga) (Valentinuz & Tollenaar, 2004).

#### **4. Factores determinantes de la senescencia foliar**

Los principales factores que regulan la senescencia foliar a nivel planta son la relación fuente-destino (RFD), el estado hídrico y nutricional, referido a nitrógeno (N) principalmente y fósforo (P).

La duración del área foliar (DAF) depende de la disponibilidad de asimilados (“fuente”) para sostener el crecimiento de los granos en postfloración (“destinos”). Tollenaar & Daynard (1982) encontraron que la senescencia foliar del cultivo de maíz puede acelerarse tanto si la RFD es muy alta (remoción de la espiga) como

muy baja (defoliación severa). Thomas (1992) propuso que la senescencia foliar puede dispararse por exceso o por falta de asimilados en la planta. De esta manera, postuló que existen dos umbrales determinantes de una ventana de disponibilidad de asimilados en la cual la senescencia no es iniciada. Rajcan & Tollenaar (1999a) determinaron la existencia de una RFD óptima durante el llenado de los granos, a la cual se maximiza la DAF (RFD=1). Cuando la RFD es menor a la óptima ocurre un aumento en la removilización de materia seca y N desde los tejidos vegetales hacia los granos, con la consecuente caída en la funcionalidad de las hojas. A su vez, cuando la RFD es mayor a la óptima se produce un aumento de la tasa de senescencia foliar debido a la acumulación de carbohidratos no estructurales en las hojas y a la inhibición del proceso fotosintético (Rajcan & Tollenaar, 1999b).

El metabolismo del nitrógeno (N) es otro factor clave que regula la senescencia foliar en la planta. La cantidad total de N extraído en los granos es la suma del N absorbido por el sistema radical en el llenado y del N removilizado desde órganos vegetativos (Pan *et al.*, 1986). En el cultivo de maíz, la absorción de N disminuye a medida que la planta avanza hacia la madurez fisiológica, lo cual se explica por un menor transporte de asimilados hacia las raíces durante el llenado de granos, producto del cambio de destino de los mismos durante este período. Este desbalance implica un aumento de la removilización de N desde hojas y tallo hacia los granos, lo cual puede conducir a la senescencia foliar eventualmente (Rajcan & Tollenaar, 1999b). El fósforo (P) es otro nutriente importante, cuya deficiencia impacta en la dinámica de aparición de hojas, disminuyendo su tasa de expansión (principalmente en las basales) y, por lo tanto, el área foliar máximo por planta (Colomb *et al.*, 2000). Este nutriente también afecta el proceso de senescencia foliar. Colomb *et al.* (2000) determinaron una reducción del 13,5% en la DAF, desde emergencia hasta la senescencia de la última hoja, bajo condiciones de deficiencia de P. A su vez, encontraron que los efectos tempranos de la baja disponibilidad de este nutriente sobre el área foliar máxima por planta redujeron entre 7 y 10% la radiación fotosintéticamente activa (RFA) interceptada por el canopeo durante todo el ciclo del cultivo.

El estado hídrico juega un rol muy importante en la regulación del área foliar por planta y el mantenimiento del área foliar verde durante el llenado de los granos. El impacto de un período de déficit hídrico sobre estas variables es dependiente de su intensidad, momento de ocurrencia y duración. Muchow & Carberry (1989) encontraron que el déficit hídrico durante la etapa vegetativa temprana disminuyó notablemente la expansión foliar y, por ende, el área foliar por planta pero no alteró significativamente la supervivencia de las hojas en el llenado de los granos. En contraste, la ocurrencia de un período de restricción hídrica en la etapa vegetativa tardía no afectó el área foliar máxima por planta pero aceleró marcadamente la senescencia foliar en postfloración. Bekavac *et al.* (2007) determinaron la existencia de una fuerte correlación positiva entre el contenido hídrico en hojas y tallo y la valoración del carácter *stay-green* en madurez en dos poblaciones segregantes de líneas de maíz.

## **5. Mejoramiento de la interceptación de radiación en maíz**

La variabilidad genética existente dentro de una especie en términos de índice de área foliar, arquitectura del canopeo y proporción de la radiación incidente que intercepta el cultivo, representa una oportunidad útil para los programas de mejoramiento orientados a aumentar el rendimiento. En maíz, el mejoramiento genético de la eficiencia en la captación de luz depende del mejoramiento de sus otras características componentes, entre ellas la duración del área foliar verde (Maddonni & Otegui, 1996). Según Tollenaar & Lee (2006), la selección por *stay-green* presenta un gran potencial para contribuir al incremento en el rendimiento de maíz debido a que aún existe variación genética favorable en el germoplasma disponible.

## **6. Antecedentes del grupo de trabajo**

En la Estación Experimental Agropecuaria INTA Pergamino, se desarrollaron las metodologías necesarias para evaluar determinados atributos asociados a la eficiencia en la captación de radiación, tales como área foliar verde máxima por planta, ángulo de inserción de las hojas y duración del área foliar verde en un

número elevado de genotipos (D'Andrea *et al.*, 2006, 2009). Estos atributos se evaluaron en un grupo de líneas endocriadas pertenecientes al programa de mejoramiento de maíz del INTA Pergamino. Se seleccionaron cinco líneas contrastantes para los caracteres antes mencionados y a partir del cruzamiento entre estas, por autofecundaciones aleatorias sucesivas bajo un esquema de *Single Seed Descent* (SSD), se generaron tres poblaciones de líneas endocriadas recombinantes (*Recombinant Inbred Lines*, RIL). En este trabajo se empleó una población de RIL F<sub>6</sub> proveniente del cruzamiento entre las líneas parentales LP179 y L5605.

## **7. Hipótesis**

Existe variabilidad genotípica asociada a la persistencia del área foliar verde en la población de líneas endocriadas recombinantes de maíz que se empleará en el presente trabajo y la misma está relacionada con la producción final de biomasa aérea y el rendimiento en granos por planta.

## **8. Objetivo general**

Generar información fenotípica referida a caracteres asociados a la captura de radiación solar en una población segregante de líneas endocriadas recombinantes de maíz.

## **9. Objetivos específicos**

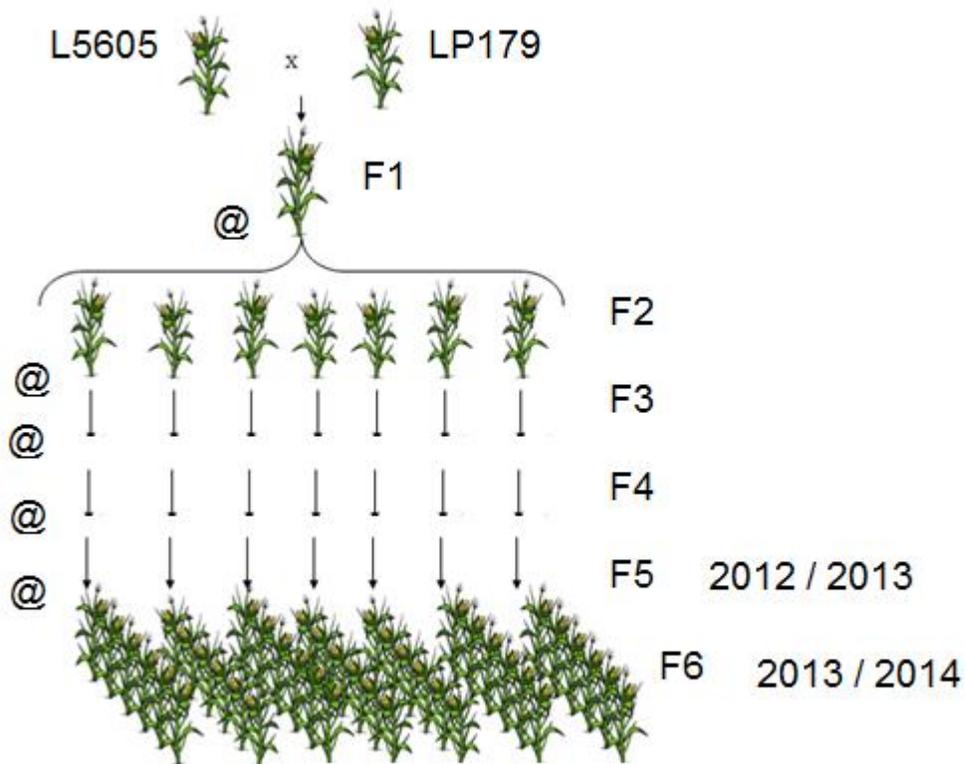
- Caracterizar la variabilidad genotípica asociada a la persistencia del área foliar verde en una población segregante de líneas endocriadas recombinantes de maíz.
- Determinar la existencia de correlaciones de dicho carácter con la producción final de biomasa aérea y el rendimiento en granos por planta.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Material vegetal

El material genético evaluado se conformó por una población estabilizada de 101 RIL F<sub>6</sub>, derivada del cruzamiento entre dos líneas contrastantes para caracteres asociados a la captura de luz (LP179 y L5605), y sucesivas generaciones de autofecundación sin selección. La línea LP179 se caracteriza por ser foliosa, planófila y de follaje persistente, mientras que L5605 es poco foliosa, erectófila y senescente. Las semillas del material genético correspondiente a las RIL F<sub>6</sub> fueron obtenidas por autofecundación de las RIL F<sub>5</sub>, durante la campaña 2012-2013 (Figura 1).

**Figura 1:** Esquema del proceso de obtención de la población de RIL empleada en el presente trabajo.



## 2. Descripción y conducción del experimento

El experimento fue conducido en secano en el campo de la Estación Experimental Agropecuaria INTA Pergamino (33° latitud Sur, 54° longitud Oeste) durante la campaña 2013-2014. El germoplasma correspondiente a la población de 101 RIL y las dos líneas parentales fue distribuido en un diseño experimental en bloques completamente aleatorizados con dos repeticiones. La siembra del experimento se realizó de manera manual. La primera repetición fue sembrada el 6 de noviembre de 2013 y, por causas meteorológicas, la siembra de la segunda repetición se efectuó a los 6 días posteriores.

Cada parcela estuvo formada por tres surcos de 5 metros de longitud, distantes a 0,7 metros entre sí. Éstas fueron sembradas con 3 semillas por golpe y posteriormente raleadas en el estadio V3 (Ritchie & Hanway, 1986). La distancia entre cada planta dentro del surco fue de 0,16 metros, determinando una densidad final aproximada de 9 plantas.m<sup>-2</sup>.

El sitio experimental fue fertilizado con 40 kg P.ha<sup>-1</sup> y 36 kg N.ha<sup>-1</sup> a la siembra, utilizando fosfato diamónico (18-20-0) como fuente. En el estadio V7, se fertilizó con 230 kg N.ha<sup>-1</sup> mediante la aplicación de urea granulada (46-0-0).

Para el control de malezas en pre-emergencia se aplicó 2 l.ha<sup>-1</sup> de atrazina (2-cloro-4-(etilamina)-6-(isopropilamina)-s-triazina) 50% + 3 l.ha<sup>-1</sup> de glifosato (N-fosfometilglicina). Durante el ciclo de cultivo, las malezas se controlaron manualmente y mediante los siguientes tratamientos químicos aplicados con mochila: Sempra® (halosulfuron-metil 75% WG, metil-3 cloro-5 (4,6-dimetoxipirimidin-2-ylcarbamoil-sulfamoil)-1-metilpirazole-4-carboxilato) 80 g.ha<sup>-1</sup> en el estadio V5 (11/12/2013) para el control de *Cyperus rotundus* L., Gramoxone® (dicloruro de paraquat: 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilio) 2 l.ha<sup>-1</sup> sobre manchones de *Cynodon dactylon* L. pers (27/12/2013) y Basagran® (bentazon 60% 3-isopropil-1H-2,1,3-benzotidiazina-4-(3H)ona-2,2-dióxido) 3,8 l.ha<sup>-1</sup> para el control de *Cyperus rotundus* L. y malezas latifoliadas presentes como *Datura ferox* L. y *Portulaca oleracea* L. (13/01/2014).

### 3. Evaluaciones fenotípicas

En el surco central de cada parcela se etiquetaron 3 plantas en el periodo V4, sobre las cuales se realizaron las siguientes mediciones no destructivas hasta el estado de madurez fisiológica:

- Número de hojas total (NHT): para ello, las hojas correspondientes a la posición 5 y 10 fueron marcadas para luego contar el número total de hojas en antesis.
- Fecha de antesis: se registró la fecha cuando el 50% de las plantas de la parcela presentaban al menos una antera visible liberando polen.
- Fecha de emisión de estigmas (“*silking*” ó R1): se registró la fecha cuando el 50% de las plantas de la parcela presentaban al menos un estigma visible. El período siembra-R1 (PSR1) se computó como la cantidad de días desde la siembra hasta la fecha de emisión de estigmas.
- Intervalo antesis-silking (ASI, en días): se calculó como la diferencia en días entre la fecha de antesis y silking (R1).
- Área foliar por planta en R1 (AFP, en cm<sup>2</sup>): para ello, se determinó el área foliar de la hoja de la espiga (HE) y de las 3 hojas inmediatamente superiores (HE+1, HE+2, HE+3) en floración debido a que varios genotipos presentaron algunas de sus hojas inferiores y/o superiores a éstas totalmente senescentes en dicho estado fenológico. A su vez, este grupo de hojas son las que contribuyen en mayor proporción al crecimiento de la espiga bajo condiciones de alta densidad de plantas (Subedi & Ma, 2005). Se efectuó la medición del largo (L) y ancho máximo (A) en cm, y mediante la utilización de la fórmula:  $L \times A \times 0,75$  (Montgomery, 1911) se calculó el área foliar de cada una de las hojas. La sumatoria del área foliar de la totalidad de las hojas medidas constituyó el área foliar por planta en floración.
- Número de hojas verdes (NHV) en R1: se consideró que las hojas verdes eran aquellas que visualmente presentaban menos de un 50% de su área foliar senescente.
- Número relativo de hojas verdes en postfloración (NHVR): a partir de los 10 días desde la fecha promedio de emisión de estigmas (R1) y periódicamente (a

los 25, 39, 51, 62, 76, 86 y 100 días desde R1), se llevó a cabo un seguimiento del NHV en las plantas en orden de determinar la proporción de hojas verdes remanentes en relación a R1. Se calculó NHVRx mediante la siguiente fórmula:

$$\text{NHVRx} = \text{NHV a los } x \text{ días desde R1} / \text{NHV en R1}$$

(siendo  $x = 10, 25, 39, 51, 62, 76, 86$  y 100 días)

Si bien Bekavac (1998) sugirió el empleo de un índice cuantitativo que relaciona el área foliar verde en un determinado estadio luego de la floración y el área foliar total para la caracterización de la senescencia de diferentes genotipos de maíz, dicha metodología de evaluación no se llevó a cabo debido a que no se midió el área foliar de la totalidad de las hojas por planta en todos los genotipos analizados en el presente experimento.

- Persistencia de las hojas verdes en postfloración (PHVpf): se computó como la cantidad de días desde la floración femenina hasta la senescencia de la última hoja verde (cuando  $\text{NHVR}=0$ ).

- Fracción de la radiación fotosintéticamente activa interceptada por el canopeo (fRFAI): fue determinada en 2 oportunidades durante el llenado de los granos, a los 39 y 47 días desde la fecha promedio de R1 (fRFAI39 y fRFAI47, respectivamente). Para ello, se utilizó un sensor ceptómetro de 1 metro de longitud (marca comercial Cavadevices®). Ambas determinaciones se realizaron en días soleados, entre las 11.30 y las 14.30 horas. En cada parcela se efectuó una medición de la radiación incidente (en  $\mu\text{MOL}$  de fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) por encima del canopeo y 3 mediciones de la radiación transmitida dentro del mismo. En este último caso, se colocó el sensor de manera diagonal a los surcos, debajo de las hojas verdes pero por encima de aquellas inferiores que se encontraron senescidas al momento de la medición. Los valores de radiación solar global, incidente y transmitida, fueron transformados a radiación fotosintéticamente activa (RFA) mediante la multiplicación por el factor 0,45 (Monteith, 1965). La RFA interceptada por el canopeo en cada parcela se calculó como la diferencia entre la RFA incidente (promedio de 10 parcelas contiguas) y la RFA transmitida (promedio de 3 mediciones en una misma parcela). Este valor fue utilizado para

determinar fRFAI, a través de su relación con la RFA incidente:  $fRFAI = RFA \text{ interceptada} / RFA \text{ incidente}$  (Maddonni & Otegui, 1996).

- Biomasa aérea por planta en madurez fisiológica (BAPmf, en  $g.planta^{-1}$ ): Al finalizar el ciclo, las plantas etiquetadas fueron cosechadas y secadas en estufa a 65 °C hasta peso constante. La totalidad del material de cada planta se pesó en una balanza comercial para determinar la biomasa aérea en madurez fisiológica.

- Rendimiento en granos por planta (RGP, en  $g.planta^{-1}$ ): las espigas granadas de cada planta se separaron del resto del material vegetal, se trillaron manualmente y se pesaron los granos para obtener el rendimiento en granos.

- Índice de cosecha (IC): se computó como la relación entre el RGP y la BAPmf:  $IC = RGP / BAPmf$ .

- Número de granos por planta (NGP): se obtuvo a través del conteo manual de los mismos, sin distinción entre espiga apical y subapicales.

- Peso individual del grano (PG, en  $mg.grano^{-1}$ ): se calculó como el cociente entre el RGP y el NGP.

En la Tabla 1 se presenta un resumen de todas las variables fenotípicas evaluadas en la población bajo estudio.

Los datos climáticos de la campaña 2013-2014 fueron recopilados por el observatorio meteorológico situado dentro del predio de la Estación Experimental Agropecuaria INTA Pergamino. Se utilizó la información referente a temperaturas en abrigo meteorológico (mínima, media y máxima, °C), heliofanía efectiva (horas y décimos), humedad relativa media (porcentaje) y precipitaciones (mm). Todos los datos fueron registrados diariamente.

Los datos de temperatura media fueron empleados en el cálculo del tiempo térmico acumulado (TT) desde la siembra hasta las fechas de antesis y emisión de estigmas (R1) promedio de todos los genotipos como así también hasta las fechas de medición del NHV en postfloración. Se calculó el tiempo térmico teniendo en cuenta una temperatura base (Tbase) de 8°C (Ritchie & NeSmith, 1991), a través del uso de la siguiente fórmula:

$$TT (\text{°Cdía}) = \sum T_{\text{media}} - T_{\text{base}}$$

#### 4. Análisis estadístico

Se estableció la normalidad de las variables analizadas mediante la distribución en histogramas de frecuencia y a través de la prueba de Shapiro-Wilks modificado, considerando que las variables presentaron distribución normal cuando el valor del estadístico  $W$  fue mayor o igual a 0,97.

Para determinar la existencia de variabilidad entre los genotipos, se efectuó el análisis de la varianza (ANOVA), previa transformación de las variables cuando fue requerido. Las asociaciones entre los caracteres se analizaron mediante la matriz de los coeficientes de correlación de Pearson ( $r$ ). El análisis de datos fue llevado a cabo con el software estadístico INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2010).

**Tabla 1:** Resumen de variables fenotípicas evaluadas en 101 RIL y 2 parentales (L5605 y LP179).

Variable	Definición	Cálculo
<b>NHT</b>	Número de hojas totales	
<b>PSR1</b>	Período siembra-R1	
<b>ASI</b>	Intervalo antesis-silking (R1) (días)	ASI = Fecha R1 - Fecha antesis
<b>AFP</b>	Área foliar por planta en floración (cm <sup>2</sup> )	AFP = $\sum$ AF hoja de la espiga (HE), HE+1, HE+2, HE+3
<b>PHVpf</b>	Persistencia de las hojas verdes en postfloración (días)	PHVpf = Fecha de medición de NHV=0 – Fecha R1
<b>fRFAI39</b>	Fracción de la RFA incidente interceptada por el canopeo a los 39 días desde R1	fRFAI = RFA interceptada / RFA incidente
<b>fRFAI47</b>	Fracción de la RFA incidente interceptada por el canopeo a los 47 días desde R1	
<b>NHVR10</b>	Número relativo de hojas verdes a los 10 días desde R1	NHVRx = NHV a x días desde R1 / NHV en R1
<b>NHVR25</b>	Número relativo de hojas verdes a los 25 días desde R1	
<b>NHVR39</b>	Número relativo de hojas verdes a los 39 días desde R1	
<b>NHVR51</b>	Número relativo de hojas verdes a los 51 días desde R1	
<b>NHVR62</b>	Número relativo de hojas verdes a los 62 días desde R1	
<b>NHVR76</b>	Número relativo de hojas verdes a los 76 días desde R1	
<b>NHVR86</b>	Número relativo de hojas verdes a los 86 días desde R1	
<b>NHVR100</b>	Número relativo de hojas verdes a los 100 días desde R1	
<b>BAPmf</b>	Biomasa aérea por planta en madurez fisiológica (g.planta <sup>-1</sup> )	
<b>RGP</b>	Rendimiento en granos por planta (g.planta <sup>-1</sup> )	
<b>IC</b>	Índice de cosecha	IC = RGP / BAPmf
<b>NGP</b>	Número de granos por planta	
<b>PG</b>	Peso individual del grano (en mg.grano <sup>-1</sup> )	PG = RGP / NGP

## RESULTADOS

### 1. Condiciones meteorológicas

En la Tabla 2 se presentan los valores medios mensuales de temperatura (máxima, media y mínima), heliofanía efectiva, humedad relativa y precipitaciones para el período Noviembre 2013-Mayo 2014. Los gráficos correspondientes a la evolución de los valores diarios de las variables meteorológicas para dicho período se encuentran en el Anexo 1.

**Tabla 2:** Valores medios mensuales de temperatura (máxima, media y mínima), heliofanía efectiva, humedad relativa y precipitaciones para el período Noviembre 2013-Mayo 2014.

Mes	Temperaturas			Heliofanía efectiva Hs y décimos	Humedad relativa %	Precipitaciones Total mm
	Máx. °C	Media °C	Mín. °C			
nov-13	26,5	20,3	14	7,1	76	173
dic-13	33	25,3	17,7	7,5	68	20,4
ene-14	30,7	24	18,2	7,7	75	279,6
feb-14	25,4	20,7	16	2,8	87	315,5
mar-14	24,8	18,6	12,1	5,6	75	114
abr-14	22,7	17,1	11,6	6,3	76	134,5
may-14	18,2	13,5	8,8	4,2	82	120,5

A continuación, en la Tabla 3, se detallan las fechas promedio de anthesis y emisión de estigmas (R1) de los genotipos, las fechas de medición del NHV en postfloración junto a sus respectivos tiempos térmicos acumulados desde la siembra.

**Tabla 3:** Antesis, R1 promedio y mediciones de NHV en postfloración: Fechas y tiempo térmico acumulado desde la siembra hasta la ocurrencia de estos eventos (Temperatura base = 8°C).

	Fecha	TT acumulado (°Cd)= $\sum T_{media}-T_{base}$ (8°C)
Promedio de Antesis	23/01/2014	1210,8
Promedio de R1 ó silking	25/01/2014	1221,1
Medición 1 de NHV en postfloración	04/02/2014	1406,1
Medición 2 de NHV en postfloración	19/02/2014	1610,8
Medición 3 de NHV en postfloración	05/03/2014	1766,4
Medición 4 de NHV en postfloración	17/03/2014	1896,7
Medición 5 de NHV en postfloración	28/03/2014	2004,4
Medición 6 de NHV en postfloración	11/04/2014	2165,4
Medición 7 de NHV en postfloración	21/04/2014	2237,6
Medición 8 de NHV en postfloración	05/05/2014	2352,3

Con las fechas y los valores de tiempo térmico acumulados presentados en la Tabla 3, se calculó la cantidad de días y el tiempo térmico desde la media de R1 hasta las distintas mediciones de NHV en postfloración (Tabla 4).

**Tabla 4:** Días y tiempo térmico acumulado desde R1 promedio hasta las mediciones de NHV en postfloración (Temperatura base = 8°C).

	Días desde R1 promedio	TT desde R1 promedio (°Cd)
Medición 1 de NHV en postfloración	10	185
Medición 2 de NHV en postfloración	25	390
Medición 3 de NHV en postfloración	39	545
Medición 4 de NHV en postfloración	51	676
Medición 5 de NHV en postfloración	62	783
Medición 6 de NHV en postfloración	76	944
Medición 7 de NHV en postfloración	86	1017
Medición 8 de NHV en postfloración	100	1131

## 2. Normalidad de las variables

La normalidad de los datos fue confirmada para las variables NHT, PSR1, AFP, fRFAI39, fRFAI47 y BAPmf, mediante la prueba de Shapiro-Wilks modificado, presentando valores del estadístico W superiores o iguales a 0,97 (Tabla 5). En el Anexo 2, se presentan los histogramas de frecuencia de todas las variables. Aquellas que no presentaron distribución normal debieron ser transformadas previamente al análisis de varianza. Para PHVpf y NHVR51 se empleó la transformación Escores Normales; para NHVR25, NHVR39 e IC se usó  $\text{Arcsen}(\sqrt{y})$  mientras que las variables RGP y NGP se transformaron utilizando Raíz. El PG fue transformado mediante la potencia ( $y^2$ ). ASI, NHVR10, NHVR62, NHVR76, NHVR86 y NHVR100 no se pudieron ajustar a la distribución normal con ninguna transformación por lo que no se analizaron mediante ANOVA.

**Tabla 5:** Test de normalidad Shapiro-Wilks modificado para las variables analizadas.

Variables	Estadístico W
NHT	0,98
PSR1	0,97
ASI	0,96
AFP	0,99
PHVpf	0,95
fRFAI39	0,97
fRFAI47	0,97
NHVR10	0,88
NHVR25	0,94
NHVR39	0,94
NHVR51	0,95
NHVR62	0,93
NHVR76	0,39
NHVR86	0,15
NHVR100	0,06
BAPmf	0,98
RGP	0,90
IC	0,93
NGP	0,91
PG	0,93

### 3. Estadísticos descriptivos y análisis de varianza

Los resultados obtenidos del análisis de varianza junto con los estadísticos descriptivos para cada variable analizada se presentan en la Tabla 6. Se detectaron diferencias altamente significativas ( $p < 0,01$ ) entre genotipos para la mayoría de las variables (NHT, PSR1, AFP, PHVpf, fRFAI47, NHVR51, BAPmf, RGP, IC, NGP y PG) y significativas ( $p < 0,05$ ) para NHVR39. Solo fRFAI39 y NHVR25 no mostraron diferencias entre genotipos.

**Tabla 6:** Resumen de medidas estadísticas de las variables analizadas: número total de genotipos evaluados en las dos repeticiones (n); Media; Coeficiente de Variación (CV); Valor mínimo (Mín); Valor máximo (Máx); Mediana; Asimetría; Kurtosis; Coeficiente de determinación ( $R^2$ ) y Valor de probabilidad (p-valor) obtenidos del análisis de varianza.

Variable	n	Media	CV (%)	Mín	Máx	Mediana	Asimetría	Kurtosis	R2	p-valor
NHT	206	20,23	5,95	16,33	23,33	20,33	0,02	0,21	0,80	<0,0001
PSR1 (días)	206	77,24	4,02	69,00	85,00	77,50	-0,12	0,06	0,74	<0,0001
ASI (días)	206	1,90	108,01	-5,00	7,00	2,00	-0,07	0,52		
AFP (cm <sup>2</sup> )	206	986,06	22,37	462,06	1731,52	988,86	0,18	0,12	0,82	<0,0001
PHVpf (días)	206	76,47	10,84	54,00	107,00	76,00	0,44	1,90	0,71*	<0,0001*
fRFAI39	206	0,34	44,73	0,03	0,70	0,34	0,21	-0,67	0,59	0,1684
fIRFAI47	206	0,24	51,64	0,01	0,59	0,23	0,31	-0,47	0,69	0,0003
NHVR10	206	0,92	7,31	0,69	1,00	0,94	-1,17	1,06		
NHVR25	206	0,85	10,92	0,52	1,00	0,86	-0,83	0,47	0,59*	0,5197*
NHVR39	206	0,71	23,15	0,19	1,00	0,74	-0,83	0,34	0,70*	0,0182*
NHVR51	206	0,46	52,60	0,00	0,91	0,47	-0,22	-0,98	0,81*	<0,0001*
NHVR62	206	0,28	79,07	0,00	0,86	0,26	0,54	-0,55		
NHVR76	206	0,03	302,05	0,00	0,57	0,00	4,32	19,95		
BAPmf (g.planta-1)	206	81,57	28,58	25,93	151,63	78,45	0,33	0,28	0,71	<0,0001
RGP (g.planta-1)	206	16,83	83,27	0,00	71,29	12,75	1,16	1,36	0,73*	<0,0001*
IC	206	0,18	68,58	0,00	0,49	0,16	0,53	-0,68	0,73*	<0,0001*
NGP	206	80,43	79,16	0,00	318,67	66,17	1,11	1,17	0,73*	<0,0001*
PG (mg.grano-1)	206	202,07	18,91	45,60	292,08	204,38	-0,52	1,02	0,73*	<0,0001*

\*: valores correspondientes a la variables transformadas previo al ANOVA

#### 4. Genotipos parentales

En la Tabla 7 se muestran los valores promedio obtenidos por los genotipos parentales (LP179 y L5605) para cada una de las variables analizadas. LP179 superó a L5605 en cuanto al área foliar de la hoja de la espiga más las 3 hojas inmediatamente superiores (AFP = 1112,42 y 895,72 cm<sup>2</sup>, respectivamente) y a la persistencia de las hojas verdes en postfloración (PHVpf = 99,00 y 68,50 días, respectivamente).

Las líneas parentales no se diferenciaron en el número de hojas total (NHT), en la duración del período siembra-R1 (PSR1) y en el intervalo antesis-silking

(ASI). A su vez, estos genotipos no mostraron diferencias en el número relativo de hojas verdes a los 10 y 25 días desde la fecha promedio de R1 (NHVR10 y NHVR25). Sin embargo, a partir de los 39 días LP179 presentó mayores valores de NHVR llegando hasta los 76 días con un 20% de las hojas verdes que presentaba en floración mientras que L5605 a los 62 días ya se encontraba totalmente senescente (Figura 3).

A los 39 días desde R1, L5605 interceptó un 37% de la RFA incidente mientras que LP179 interceptó el 25%. A los 47 días, la fracción de la RFA interceptada por L5605 disminuyó ( $fRFAI_{47} = 0,16$ ), mientras que para LP179 permaneció casi constante ( $fRFAI_{47} = 0,28$ ).

LP179 fue levemente superior a L5605 en BAPmf, con valores de 92,53 y 84,25 g.planta<sup>-1</sup> respectivamente, y levemente inferior en RGP (15,42 y 20,92 g.planta<sup>-1</sup>, respectivamente), IC (0,41 y 0,46), NGP (61,00 y 77,83) y PG (248,35 y 260,64 mg.grano<sup>-1</sup>).

**Tabla 7:** Valores promedio de los parentales LP179 y L5605 para número de hojas totales (NHT), período siembra-R1 (PSR1), intervalo antesis-silking (ASI), sumatoria del área foliar de HE, HE+1, HE+2 y HE+3 (AFP), persistencia de las hojas verdes en postfloración (PHVpf), fracción de la RFA interceptada por el canopeo a los 39 y 47 días desde R1 (fRFAI39 y fRFAI47), número relativo de hojas verdes a los 10, 25, 39, 51, 62 y 76 días desde R1 (NHVR10, NHVR25, NHVR39, NHVR51, NHVR 62, NHVR76), biomasa aérea por planta en madurez fisiológica (BAPmf), rendimiento en granos por planta (RGP), índice de cosecha (IC), número de granos por planta (NGP) y peso individual de grano (PG).

<b>Variable</b>	<b>L5605</b>	<b>LP179</b>
NHT	20,53	19,33
PSR1 (días)	70,5	73,5
ASI (días)	0	1,5
AFP (cm <sup>2</sup> )	895,72	1112,42
PHVpf (días)	68,50	99,00
fRFAI39	0,37	0,25
fRFAI47	0,16	0,28
NHVR10	0,93	0,91
NHVR25	0,81	0,88
NHVR39	0,58	0,79
NHVR51	0,18	0,62
NHVR62	0,00	0,53
NHVR76	0,00	0,20
BAPmf (g.planta-1)	84,25	92,53
RGP (g.planta-1)	20,92	15,42
IC	0,46	0,41
NGP	77,83	61,00
PG (mg.grano-1)	260,64	248,35

## 5. Patrón de senescencia foliar

Se observó una gran variabilidad en la evolución del número relativo de hojas verdes en postfloración entre los genotipos evaluados. Se pudieron discriminar tres grupos con diferente comportamiento: genotipos con baja, intermedia y alta persistencia foliar.

Los genotipos con baja persistencia foliar llegan a los 51 días desde R1 con un 30 % o menos de las hojas verdes que presentaban en floración (Figura 2A).

En este grupo, la senescencia foliar ocurrió a un ritmo mayor. Dentro del mismo, se ubicó el parental L5605.

Los genotipos agrupados en la clase de persistencia foliar intermedia presentaron un 30% o más de sus hojas verdes a los 51 días desde R1. A su vez, éstos pueden dividirse en dos subgrupos. El primero mostró una rápida caída del NHVR a partir de los 39 días desde R1 (Figura 2B), mientras que el segundo presentó un mayor NHVR hasta los 62 días desde R1 y a partir de allí, disminuyó abruptamente (Figura 2C).

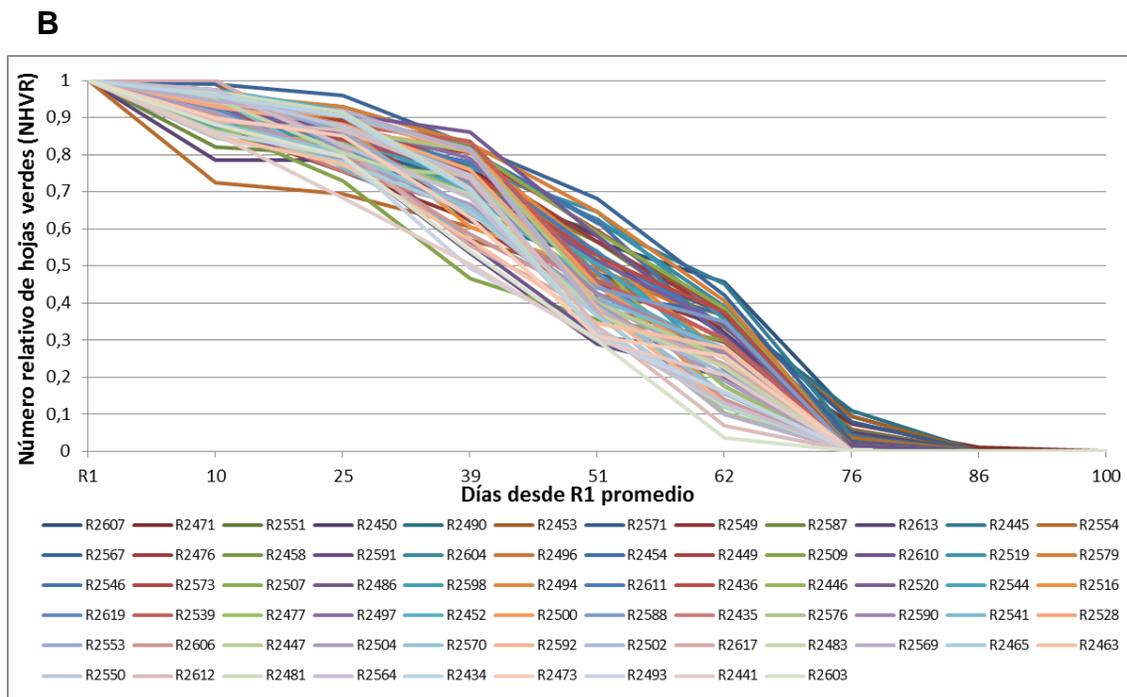
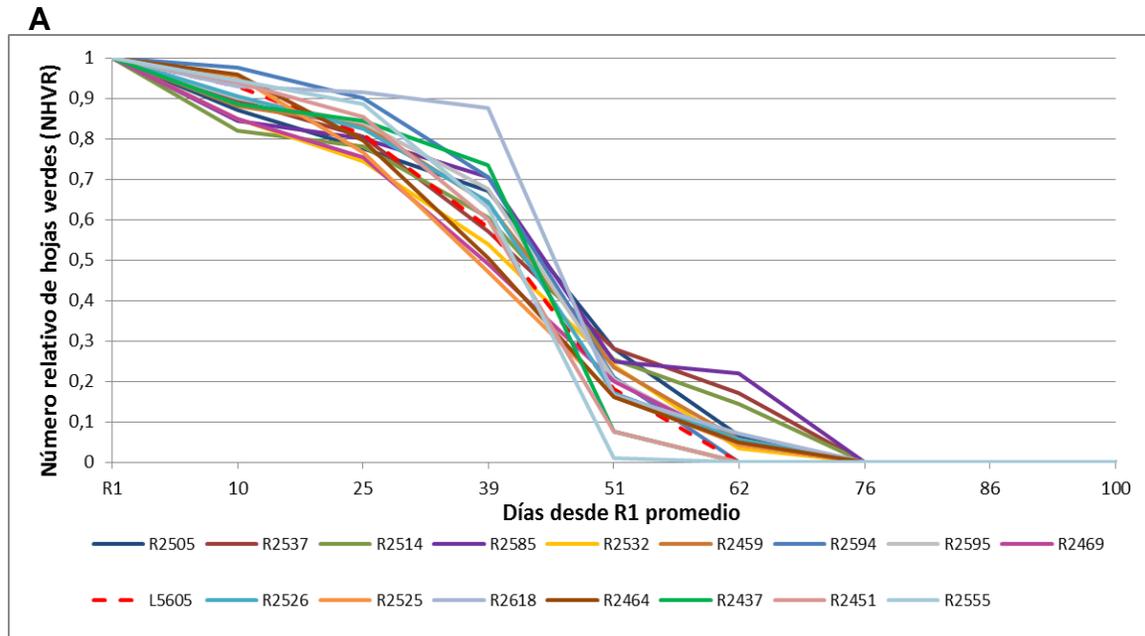
Los genotipos con una elevada persistencia foliar en el período de postfloración mantuvieron a los 76 días desde R1 alrededor del 30% de las hojas verdes con respecto a floración (Figura 2D). En este caso, la senescencia foliar se produjo más lentamente durante el llenado de los granos. En este grupo se ubicó el parental LP179.

Estos distintos comportamientos se representan en la Figura 3, la cual grafica la evolución del NHVR de 4 genotipos característicos de cada uno de los grupos en función del tiempo térmico desde la fecha promedio de R1: L5605 (genotipo parental de baja persistencia foliar), R2613, R2600 (ambos con persistencia foliar intermedia) y LP179 (genotipo parental de alta persistencia foliar).

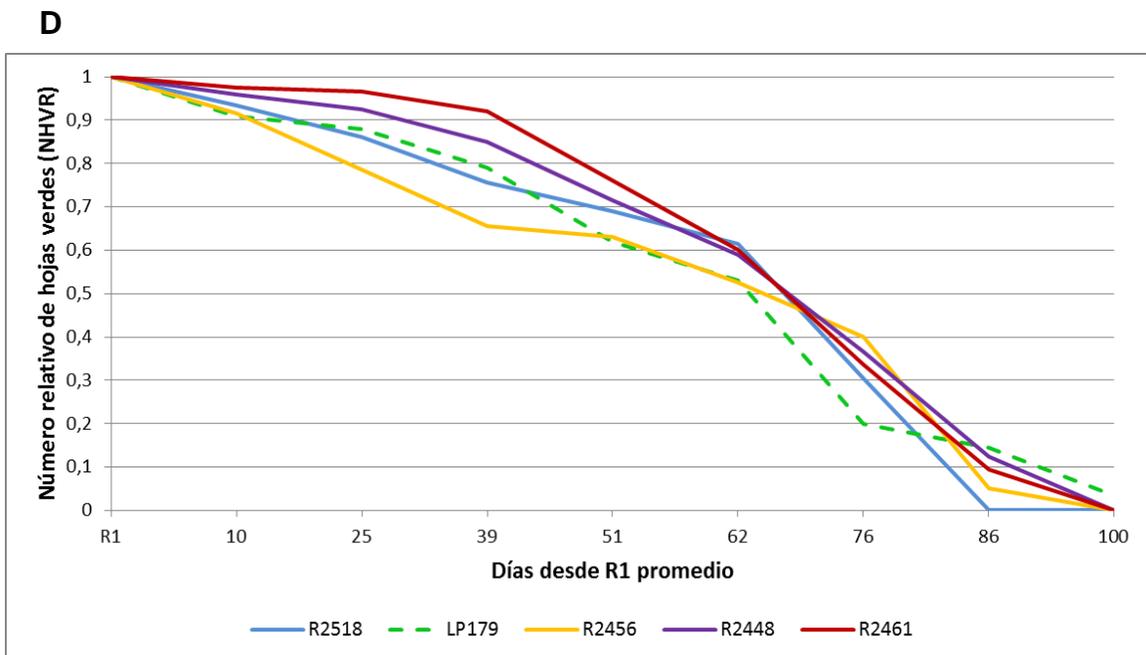
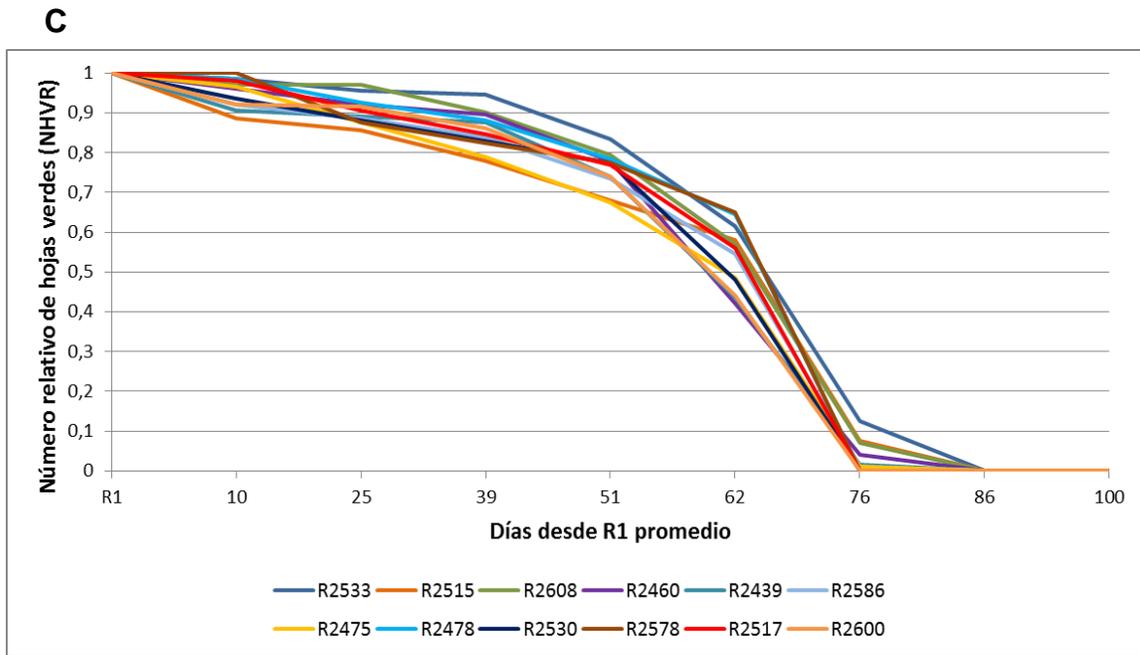
## **5. Correlaciones entre variables**

En el análisis de correlaciones entre variables a través de la matriz de los coeficientes de Pearson ( $r$ ), se encontró que en general existe correlación positiva significativa ( $p < 0,01$ ) entre la mayoría de ellas. Solo el PSR1 se correlacionó en forma negativa con algunas variables (AFP, PHVpf, fRFAI39, NHVR39, NHVR86, BAPmf, IC, NGP y RGP). BAPmf se correlacionó significativamente con todas las demás variables, excepto con ASI, NHVR86 y NHVR100. RGP y NGP presentaron correlación con la mayoría de los demás caracteres pero no se relacionaron de manera significativa con NHT, ASI, PHVpf, NHVR76, NHVR86 y NHVR100. El PG solo se correlacionó con fRFAI39, fRFAI47, NHVR25, NHVR39, NHVR51 y NHVR62 (Tabla 8).

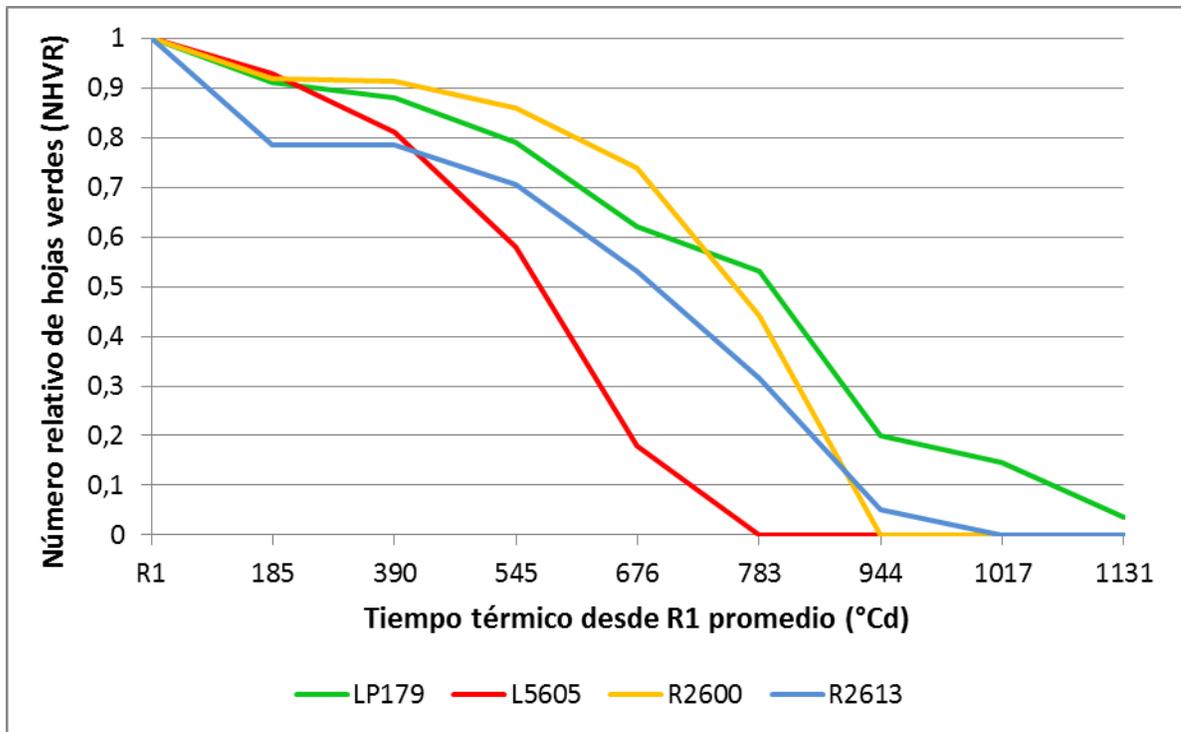
**Figura 2:** Evolución del número relativo de hojas verdes en postfloración (NHVR). **A:** Genotipos de baja persistencia foliar; **B:** Genotipos intermedios con rápida caída del NHVR a partir de los 25 a 39 días desde R1; **C:** Genotipos intermedios con rápida caída del NHVR a partir de los 51 días; **D:** Genotipos de alta persistencia foliar.



**Figura 2 (Continuación):** Evolución del número relativo de hojas verdes en postfloración (NHVR). **A:** Genotipos de baja persistencia foliar; **B:** Genotipos intermedios con rápida caída del NHVR a partir de los 25 a 39 días desde R1; **C:** Genotipos intermedios con rápida caída del NHVR a partir de los 51 días; **D:** Genotipos de alta persistencia foliar.



**Figura 3:** Evolución del NHVR en postfloración de los genotipos: L5605 (baja persistencia foliar), R2613, R2600 (ambos con persistencia foliar intermedia) y LP179 (alta persistencia foliar).



**Tabla 8: Matriz de los coeficientes de correlación de Pearson (r)**

	NHT	PSR1 (días)	ASI (días)	AFP (cm2)	PHVpf (días)	rFAI39	rFAI47	NHVR10	NHVR25	NHVR39	NHVR51	NHVR62	NHVR76	NHVR86	NHVR100	BAPmf (g.planta-1)	IC	NGP	PG (mg.grano-1)	RGP (g.planta-1)
NHT	1																			
PSR1 (días)	0,028ns	1																		
ASI (días)	0,046ns	0,107ns	1																	
AFP (cm2)	0,089ns	-0,265***	0,029ns	1																
PHVpf (días)	-0,074ns	-0,282***	-0,143*	0,302***	1															
rFAI39	0,172*	-0,202**	0,018ns	0,385***	0,129ns	1														
rFAI47	0,143*	-0,091ns	0,009ns	0,412***	0,364***	0,510***	1													
NHVR10	0,01ns	-0,047ns	-0,133ns	0,152*	0,023ns	0,231**	0,177**	1												
NHVR25	0,13ns	-0,200ns	-0,026ns	0,477***	0,183*	0,334**	0,430***	0,635***	1											
NHVR39	0,111ns	-0,178*	0,061ns	0,468***	0,277**	0,339***	0,519***	0,343***	0,781***	1										
NHVR51	0,015ns	-0,059ns	0,041ns	0,454***	0,492***	0,310***	0,592***	0,251***	0,540***	0,756***	1									
NHVR62	0,03ns	-0,045ns	0,026ns	0,431***	0,516***	0,288***	0,543***	0,257***	0,467***	0,632***	0,875***	1								
NHVR76	-0,024ns	-0,024ns	0,080ns	0,162*	0,560***	0,092ns	0,243***	0,063ns	0,148*	0,191**	0,346***	0,484***	1							
NHVR86	-0,026ns	-0,139*	0,051ns	0,092ns	0,453***	0,029ns	0,058ns	0,105ns	0,133ns	0,139*	0,211**	0,298***	0,690***	1						
NHVR100	-0,052ns	-0,118ns	-0,031ns	0,074ns	0,258***	-0,039ns	-0,024ns	0,081ns	0,069ns	0,053ns	0,100ns	0,159*	0,266***	0,711***	1					
BAPmf (g.planta-1)	0,240**	-0,255***	-0,023ns	0,639***	0,249***	0,532***	0,507***	0,209**	0,444***	0,529***	0,489***	0,464***	0,139*	0,112ns	0,071ns	1				
IC	0,094ns	-0,216**	-0,055ns	0,218**	0,020ns	0,281***	0,294***	0,243***	0,308***	0,294***	0,268***	0,224**	-0,117ns	-0,051ns	0,001ns	0,489***	1			
NGP	0,144	-0,252***	-0,041ns	0,402***	0,086ns	0,397***	0,376***	0,245***	0,375***	0,361***	0,329***	0,288***	-0,06ns	-0,020ns	-0,011ns	0,702***	0,906***	1		
PG (mg.grano-1)	-0,04ns	-0,108ns	-0,007ns	0,057ns	-0,055ns	0,147*	0,182**	0,132ns	0,155*	0,237**	0,234**	0,235**	-0,031ns	0,028ns	0,125ns	0,341***	0,426***	0,269***	1	
RGP (g.planta-1)	0,123ns	-0,252***	-0,054ns	0,389***	0,092ns	0,401***	0,391***	0,240**	0,373***	0,387***	0,375***	0,339***	-0,045ns	0,013ns	0,013ns	0,730***	0,919***	0,968***	0,424***	1

\*\*\*, \*\* Valor de probabilidad asociada p<0,001, p<0,01 y p<0,05; ns: no significativo

## **DISCUSIÓN**

En el presente trabajo se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos para la persistencia de las hojas verdes en postfloración (PHVpf) y el número de hojas verdes relativo (NHVR) medido a los 39 y 51 días desde R1 (NHVR39 y NHVR51). Asimismo se encontraron diferentes patrones en la evolución del número relativo de hojas verdes en postfloración. Esto indica la existencia de variabilidad genotípica asociada a la persistencia del área foliar verde en la población de líneas endocriadas recombinantes de maíz bajo estudio, por lo que no se rechaza la primera parte de la hipótesis planteada.

A través de la matriz de los coeficientes de Pearson ( $r$ ) se determinaron correlaciones positivas significativas entre PHVpf y las mediciones de NHVR desde los 10 hasta los 76 días desde la fecha promedio de floración (NHVR10, NHVR25, NHVR39, NHVR51, NHVR62 y NHVR76) con la biomasa aérea por planta en madurez fisiológica (BAPmf). En cuanto al rendimiento en granos por planta (RGP), si bien no se detectaron correlaciones significativas con PHVpf, se encontró una asociación positiva con los valores de NHVR obtenidos desde los 10 hasta 62 días desde la fecha promedio de floración. Estas relaciones entre variables permiten no rechazar la segunda parte de la hipótesis planteada en este trabajo.

Las condiciones ambientales de la campaña 2013-2014 afectaron los valores obtenidos en la evaluación fenotípica de la población de RIL y los parentales L5605 y LP179. Durante la etapa vegetativa, las plantas se vieron expuestas a condiciones ambientales caracterizadas por escasos registros de precipitación junto con temperaturas en ascenso hacia el mes de Enero (Tabla 2 y Anexo 1). Se presentaron temperaturas máximas muy elevadas en dos lapsos importantes de tiempo, probablemente ocasionando estrés térmico o hídrico: el primero en diciembre, durante el período vegetativo; y el segundo en enero, en el período alrededor de floración.

En primer lugar, durante varios días a lo largo de la segunda mitad de Diciembre se registraron temperaturas superiores a los 34°C (14 de 17 días entre

14/12/2013 y 31/12/2013). Dado que al inicio de dicho período los genotipos se encontraban en su mayoría en el estado V7, estas condiciones pudieron haber afectado el crecimiento y, particularmente, la expansión foliar. Esto se vio reflejado en el aspecto general de las líneas endocriadas a lo largo de este experimento. Las plantas presentaron una menor altura y una disminución en la expansión foliar en comparación a otras campañas sin estrés o bajo riego (2012-2013 y 2014-2015). El estado hídrico es un factor clave en la regulación del área foliar por planta como así también en el mantenimiento del área foliar verde durante el llenado de los granos. Varios investigadores han encontrado que el déficit hídrico durante la etapa vegetativa del cultivo produce una disminución en la altura de las plantas y el área foliar (Watts, 1974; Muchow & Carberry, 1989; NeSmith & Ritchie, 1992).

Durante la segunda mitad de enero ocurrió un nuevo episodio de elevadas temperaturas. Durante ocho de diez días, en el lapso comprendido entre 14/1/2014 y 24/1/2014 se produjeron temperaturas superiores a los 34°C, lo cual coincidió con el período crítico para la determinación del número de granos y del rendimiento por planta (Fecha promedio de R1 = 25/1/2014). Los valores promedio obtenidos para el número de granos (NGP) y el rendimiento en grano por planta (RGP, en g.planta<sup>-1</sup>) fueron inferiores a los informados por D'Andrea *et al.* (2006, 2009) en líneas endocriadas de maíz. Esto probablemente se explique por el efecto del ambiente sobre la tasa de crecimiento por planta en el período crítico (TCP<sub>PC</sub>) de los genotipos evaluados en este experimento (Andrade *et al.*, 1996).

D'Andrea *et al.* (2006) evaluaron distintos atributos morfológicos determinantes del rendimiento en un grupo de líneas endocriadas de maíz (algunas de ellas pertenecientes al programa de mejoramiento de INTA) en condiciones de baja y adecuada disponibilidad de N. En el presente trabajo, el número total de hojas (NHT) mostró un valor promedio similar al reportado por estos autores, como así también el intervalo anthesis-silking (ASI), sin embargo, este último presentó un rango de valores más amplio (-5 a 7 días), lo cual podría estar asociado a un comportamiento diferencial de los genotipos frente a condiciones de estrés abiótico (Bänziger *et al.*, 2000). La biomasa aérea en

madurez fisiológica (BAPmf, en g.planta<sup>-1</sup>) mostró un valor medio inferior al informado por estos autores, como así también, el número de granos (NGP) y el rendimiento en grano por planta (RGP), mientras que el peso individual del grano (PG) tuvo valores medios similares.

Los elevados registros pluviométricos y prolongada nubosidad durante fin de Enero y Febrero ocasionaron períodos de exceso de humedad y anegamiento. Esto imposibilitó la toma de datos de intercepción de radiación alrededor de floración, los cuales requieren ser medidos en días totalmente despejados entre las 11.30 y las 14.30 horas. Por tal motivo este dato tuvo que medirse en una etapa avanzada del ciclo de cultivo (llenado de granos) y esta puede ser una de las causas, además de las condiciones climáticas desfavorables, de los bajos valores de intercepción que mostraron los genotipos, con respecto al obtenido por otros autores que trabajaron con líneas endocriadas (D'Andrea *et al.*, 2006, 2009).

Para generar datos comparables del carácter *stay-green* entre diferentes genotipos de maíz, Bekavac (1998) sugirió el empleo de un índice cuantitativo que relaciona el área foliar verde en un determinado estadio durante postfloración y el área foliar total. Zheng *et al.* (2009), en una población segregante F<sub>2:3</sub>, emplearon el área foliar verde relativa (Área foliar verde evaluada a "x" días desde R1 / Área foliar verde máxima en R1 x 100) en mediciones efectuadas a los 20, 40, 50 y 60 días desde R1 (similares al intervalo del presente estudio). En este trabajo, el carácter *stay-green* fue medido a través del número relativo de hojas verdes (NHVR) a lo largo del período de postfloración con respecto a la fecha promedio de R1. Los valores de NHVR a los 25, 39, 51 y 62 días presentaron valores medios similares a los obtenidos por Zheng *et al.* (2009).

Según Borrás *et al.* (2003), el proceso de senescencia foliar presenta dos fases distintas. La primera comienza a los 400-450 °Cdía desde la siembra y finaliza a los 100 °Cdía después de la floración femenina, presentando una baja tasa de senescencia. La segunda fase se extiende desde los 100 °Cdía postfloración hasta la madurez fisiológica del cultivo y se caracteriza por una tasa notablemente mayor. Si bien en el presente trabajo no se determinó la tasa de senescencia, se pudieron discriminar tres grupos de genotipos con diferente

comportamiento en cuanto a la evolución del número relativo de hojas verdes en postfloración (NHVR). En los genotipos con baja persistencia foliar, a partir de los 10 a 25 días desde R1 promedio el número de hojas decayó rápidamente (lo cual corresponde a las mediciones efectuadas a los 185 y 390 °Cdía desde dicho estadio), en contraste con el grupo de genotipos con elevada persistencia foliar, el cual mantuvo un mayor número relativo de hojas verdes por más tiempo y su disminución se produjo en forma gradual a lo largo del llenado de granos. Dentro de las líneas con comportamiento intermedio se destacaron aquellas que presentaron un mayor número relativo de hojas verdes hasta los 62 días desde R1 promedio (783 °Cdía), momento a partir del cual la disminución de esta variable se produjo de manera abrupta.

La duración del área foliar verde es una característica importante que influye en la eficiencia de la captación de luz, permitiendo además prolongar la producción de fotoasimilados para el llenado de los granos. Varios investigadores encontraron que la producción de biomasa se relaciona con la intercepción de radiación por el canopeo durante el llenado de los granos en híbridos de maíz (Tollenaar & Aguilera, 1992; Maddonni & Otegui, 1996). En este trabajo, se encontró asociación altamente significativa ( $p < 0,001$ ) entre la producción final de biomasa aérea y las variables relacionadas al carácter *stay-green* (PHVpf y NHVR a los 25, 39, 51 y 62 días desde R1). La alta correlación entre dichas variables y la intercepción de radiación indicaría la importancia que tiene la duración del área foliar verde para permitir una mayor captación de luz en la etapa final del ciclo de cultivo.

Investigaciones previas han demostrado que el *stay-green* está fuertemente relacionado con una mayor retención de la capacidad fotosintética y con incrementos del rendimiento (Gentinetta *et al.*, 1986; Thomas & Howarth, 2000; Gambín *et al.*, 2006; Zheng *et al.*, 2009; Alvarez Prado *et al.*, 2013). En el presente trabajo también se detectaron correlaciones positivas y altamente significativas ( $p < 0,001$ ) entre los valores de NHVR (a los 25, 39, 51 y 62 días desde R1) y el rendimiento en granos por planta (RGP).

La información generada a través del fenotipado de la población de RIL en el presente trabajo podrá ser utilizada para un posterior estudio de la persistencia del área foliar verde con marcadores moleculares, con el propósito de identificar loci de caracteres cuantitativos (QTL) asociados al mismo. Dadas las condiciones ambientales que exploraron los genotipos en este experimento (déficit hídrico y altas temperaturas), los QTL que eventualmente se identifiquen estarían relacionados a la expresión de dicho carácter bajo estrés abiótico. Se sugiere repetir el experimento bajo condiciones óptimas, lo cual brindaría la posibilidad de encontrar QTL estables a través de ambientes contrastantes.

## **CONCLUSIONES**

En el presente trabajo se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos con respecto a variables relacionadas al *stay-green* (PHVpf, NHVR39 y NHVR51) y distintos patrones en la evolución del número relativo de hojas verdes en postfloración, lo cual permitió confirmar la existencia de variabilidad genotípica asociada a la persistencia del área foliar verde en la población de líneas endocriadas recombinantes de maíz bajo estudio.

Asimismo, se determinaron correlaciones positivas significativas entre los caracteres relacionados al *stay-green* y la producción final de biomasa aérea y el rendimiento en granos por planta.

Con el fin de confirmar estos hallazgos e iniciar el estudio de la persistencia del área foliar verde con marcadores moleculares, se sugiere repetir el experimento bajo condiciones ambientales óptimas.

## RESUMEN

La obtención de altos rendimientos en maíz depende no sólo de la fijación de un elevado número de granos por unidad de superficie sino también de la fuente fotosintética suficiente para el llenado de los mismos. La duración del área foliar verde es una característica importante que influye en la eficiencia de intercepción de la radiación y la producción de asimilados durante el llenado de granos. El término *stay-green* se refiere a la manifestación externa de la senescencia foliar retrasada en el estadio final del ciclo de crecimiento del cultivo. En el trabajo realizado en el contexto de esta tesis se evaluaron distintos atributos relacionados a la captura de luz y al *stay-green* junto a variables asociadas al rendimiento en grano en una población de 101 líneas endocriadas recombinantes (RIL) F<sub>6</sub> de maíz, derivada del cruzamiento entre dos líneas contrastantes para los caracteres mencionados (L5605 y LP179). Los objetivos fueron caracterizar la variabilidad genotípica asociada a la persistencia del área foliar verde en la población empleada y determinar la existencia de correlaciones de dicho carácter con la producción final de biomasa aérea y el rendimiento en grano. El experimento fue conducido en secano dentro del campo de la EEA INTA Pergamino, durante la campaña 2013-2014. Se detectaron diferencias altamente significativas ( $p < 0,01$ ) entre genotipos para la mayoría de las variables evaluadas: número total de hojas (NHT), días desde siembra a emisión de estigmas (R1) (PSR1), área foliar de la hoja de la espiga más las tres inmediatamente superiores (AFP, cm<sup>2</sup>), persistencia de las hojas verdes en postfloración (PHVpf, días), eficiencia de intercepción de la radiación a los 47 días desde R1 (fRFAI47), número relativo de hojas verdes a los 51 días desde R1 (NHVR51), biomasa aérea por planta en madurez fisiológica (BAPmf, g.planta<sup>-1</sup>), rendimiento en grano por planta (RGP, g.planta<sup>-1</sup>), número de granos por planta (NGP) y peso individual del grano (mg.grano<sup>-1</sup>). También se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para el número relativo de hojas verdes a los 39 días desde R1 (NHVR39). Las asociaciones entre variables se establecieron a través de la matriz de los coeficientes de correlación de Pearson (r). BAPmf presentó correlación positiva significativa con la mayoría de las

variables relacionadas a la captura de radiación y al *stay-green*, excepto con NHVR86 y NHVR100. Por su parte, RGP y NGP se correlacionaron positivamente con la mayoría de dichos caracteres pero no se relacionaron de manera significativa con PHVpf, NHVR76, NHVR86 y NHVR100. El PG solo se correlacionó de manera positiva con fRFAI39, fRFAI47, NHVR25, NHVR39, NHVR51 y NHVR62. Este trabajo generó la información fenotípica necesaria para el comienzo del estudio de estos atributos con marcadores moleculares, con el fin de identificar loci de caracteres cuantitativos (QTL) asociados a los mismos.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Alvarez Prado, S., López, C.G., Gambín, B.L., Abertondo, V.J. & Borrás, L. (2013). Dissecting the genetic basis of physiological processes determining maize kernel weight using the IBM (B73xMo17) Syn4 population. *Field Crops Research* 145: 33-43.
- Andrade, F., Cirilo, A.G., Uhart, S. & Otegui, M.E. (1996). *Ecofisiología del cultivo de Maíz*. Dekalb Press. Editorial La Barrosa. Capítulo 3: 81-96.
- Bänziger, M., Edmeades, G.O., Beck, D. & Bellon, M. (2000). Breeding for Drought and Nitrogen Stress Tolerance in Maize: From Theory to Practice. Mexico, D.F.: CIMMYT: 40-42.
- Bekavac, G. (1998). Path analysis of stay-green trait in maize. *Cereal Res. Commun.* 35: 31-41.
- Bekavac, G., Purar, B., Stojakovic, M., Jockovic, D.J., Ivanovic, M. & Nastasic, A. (2007). Genetic analysis of stay-green trait in broad-based maize populations. *Cereal Research Communications* 35 (1): 31-41.
- Borrás, L. & Otegui, M.E. (2001). Maize kernel weight response to postflowering source-sink ratio. *Crop Science* 41: 1816-1822.
- Borrás, L., Maddonni, G.A. & Otegui, M.E. (2003). Leaf senescence in maize hybrids: stand density, row spacing, and source-sink ratio effects. *Field Crops Research* 82: 13-26.
- Colomb, B., Kiniry, J.R. & Debaeke, Ph. (2000). Effect of soil phosphorus on leaf development and senescence dynamics of field-grown maize. *Agronomy Journal* 92: 428-435.
- D'Andrea, K.E., Otegui, M.E., Cirilo, A.G. & Eyhéabide, G. (2006). Genotypic Variability in Morphological and Physiological Traits among Maize Inbred Lines-Nitrogen Responses. *Crop Science* 46: 1266-1276.
- D'Andrea, K.E., Otegui, M.E., Cirilo, A.G. & Eyhéabide, G. (2009). Ecophysiological traits in maize hybrids and their parental inbred lines: Phenotyping of responses to contrasting nitrogen supply levels. *Field Crops Research* 114: 147-158.

- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M. & Robledo, C.W. InfoStat versión 2010. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Duvick, D.N. (1992). Genetic contributions to advances in yield of U.S. maize. *Maydica* 37: 69-79.
- Duvick, C.N. & Cassman, K.G. (1999). Post-green revolution trends in yield potential of temperate maize in the north-central United States. *Crop Science* 39: 1622-1630.
- Duvick, D.N. (2005). The contribution of breeding to yield advances in maize (*Zea mays* L.). *Advances in Agronomy* 86: 83-145.
- Evans, L.T. & Fischer, R.A. (1999). Yield potential: its definition, measurement and significance. *Crop Science* 39: 1544-1551.
- Eyhéabide, G.H. & Damilano, A.L. (2001). Evolución de la ganancia genética en rendimiento de grano de maíz en Argentina entre 1979 y 1998. *Asoc. Ing. Agr. del Norte de la Prov. de Buenos Aires (Eds.), V Congreso Nacional de Maíz, Pergamino, Argentina: 70-78.*
- Gambín, B.L., Borrás, L. & Otegui, M.E. (2006). Source-sink relations and kernel weight differences in maize temperate hybrids. *Field Crops Research* 95: 316-326.
- GBEP-FAO (2008). A review of the current state of bioenergy development in G8 +5 countries. Global Bioenergy Partnership Secretariat; Food and Agriculture Organization of the United Nations; Environment, Climate Change and Bioenergy Division. Rome, Italy, pp 302.
- Gentinetta, E., Ceppi, D., Lepori, C., Perico, G., Motto, M. & Salamini, F. (1986). A major gene for delayed senescence in maize. Pattern of photosynthates accumulation and inheritance. *Plant Breeding* 97: 193-203.
- Hall, H.J., Rebella, C.M., Ghera, C.M. & Culot, J.Ph. (1992). Field-crop systems of the Pampas. Pearson, C.J. (Ed.), *Field Crop Ecosystems*. Elsevier, Amsterdam, 413-449.

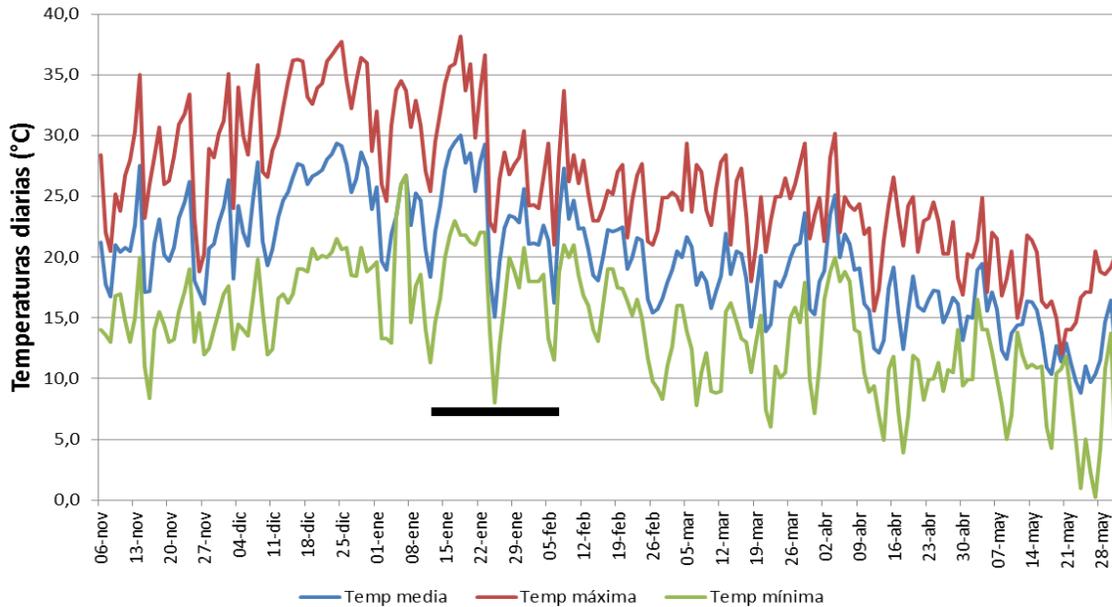
- Jiang, G.H., He, Y.Q., Xu, C.G., Li, X & Zhang, Q. (2004). The genetic basis of stay-green in rice analyzed in a population of doubled haploid lines derived from an indica by japonica cross. *Theor. Appl. Genet.* 108: 688-698.
- Luque, S.F., Cirilo, A.G. & Otegui, M.E. (2006). Genetic gains in grain yield and related physiological attributes in Argentine maize hybrids. *Field Crops Research* 95: 383-397.
- Maddonni, G.A. & Otegui, M.E. (1996). Leaf area, light interception, and crop development in maize. *Field Crops Research*, 48: 81-87.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (MinAgri) (2015). [http://www.siiia.gov.ar/sst\\_pcias/estima/estima.php](http://www.siiia.gov.ar/sst_pcias/estima/estima.php).
- Monteith, J.L. (1965). Radiation and crops. *Exp. Agric.* 1: 241-251.
- Montgomery, E.G. (1911). Correlation studies in corn. *Neb. Agric. Exp. Stn. Annu. Rep* 24: 108-159.
- Muchow, R.C. & Carberry, P.S. (1989). Environmental control of phenology and leaf growth in a tropically adapted maize. *Field Crops Research* 20: 221-236.
- Muchow, R.C., Sinclair, T.R. & Bennett, J.M. (1990). Temperature and solar radiation effects on potential maize yield across locations. *Agron. J.* 82: 338-343.
- NeSmith, D.S. & Ritchie, J.T. (1992). Short and long term responses of corn to pre-anthesis soil water deficit. *Agronomy Journal* 84: 107-113.
- Pan, W.L., Cambereto, J.J., Jackson, W.A. & Moll, R.H. (1986). Utilization of previously accumulated and concurrently absorbed nitrogen during reproductive growth in maize. *Plant Physiol.* 82: 247-253.
- Rajcan, I. & Tollenaar, M. (1999a). Source:sink ratio and leaf senescence in maize: I. Dry matter accumulation and partitioning during grain filling. *Field Crops Research* 60: 245-253.
- Rajcan, I. & Tollenaar, M. (1999b). Source:sink ratio and leaf senescence in maize: II. Nitrogen metabolism during grain filling. *Field Crops Research* 60: 255-265.

- Ritchie, S.W. & Hanway, J.J. (1986). How a corn plant develops. Special Report No.48. Iowa State University and Technology Cooperative Extension Service, Ames Iowa. 21 pp.
- Ritchie, J.T. & NeSmith, D.S. (1991). Temperature and crop development. J. Hanks and J.T. Ritchie (ed.) Modelling plant and soil systems. Agron. Monogr. 31. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI: 5-29.
- Sadras, V.O., Echarte, L. & Andrade, F. (2000). Profile of leaf senescence during reproductive growth of sunflower and maize. *Ann. Bot.* 85: 187-195.
- Subedi, K.D. & Ma, B.L. (2005). Ear position, leaf area and contribution of individual leaves to grain yield in conventional and leafy maize hybrids. *Crop Science* 45: 2246-2257.
- Thomas, H. (1992). Canopy survival. Baker, N.R., Thomas, H. (Eds.), *Crop Photosynthesis: Spatial and Temporal Determinants*. Elsevier, Amsterdam: 11-41.
- Thomas, H. & Howarth, C.J. (2000). Five ways to stay green. *J. Exp. Bot.* 51: 329-337.
- Tollenaar, M. & Daynard, T.B. (1982). Effect of source-sink ratio on dry matter accumulation and leaf senescence of maize. *Can. J. Plant Sci.* 62: 855-860.
- Tollenaar, M. & Aguilera, A. (1992). Radiation use efficiency of an old and new maize hybrid. *Crop Science* 84: 536-541.
- Tollenaar, M. & Wu, J. (1999). Yield improvement in temperate maize is attributable to greater stress tolerance. *Crop Science* 39: 1597-1604.
- Tollenaar, M. & Lee, E.A. (2002). Yield potential, yield stability and stress tolerance in maize. *Field Crop Research* 75: 161-169.
- Tollenaar, M. & Lee, E.A. (2006). Dissection of physiological processes underlying grain yield in maize by examining genetic improvement and heterosis. *Maydica* 51: 399-408.
- Valentinuz, O. & Tollenaar, M. (2004). Vertical profile of leaf senescence during the grain-filling period in older and newer maize hybrids. *Crop Science* 44: 827-834.

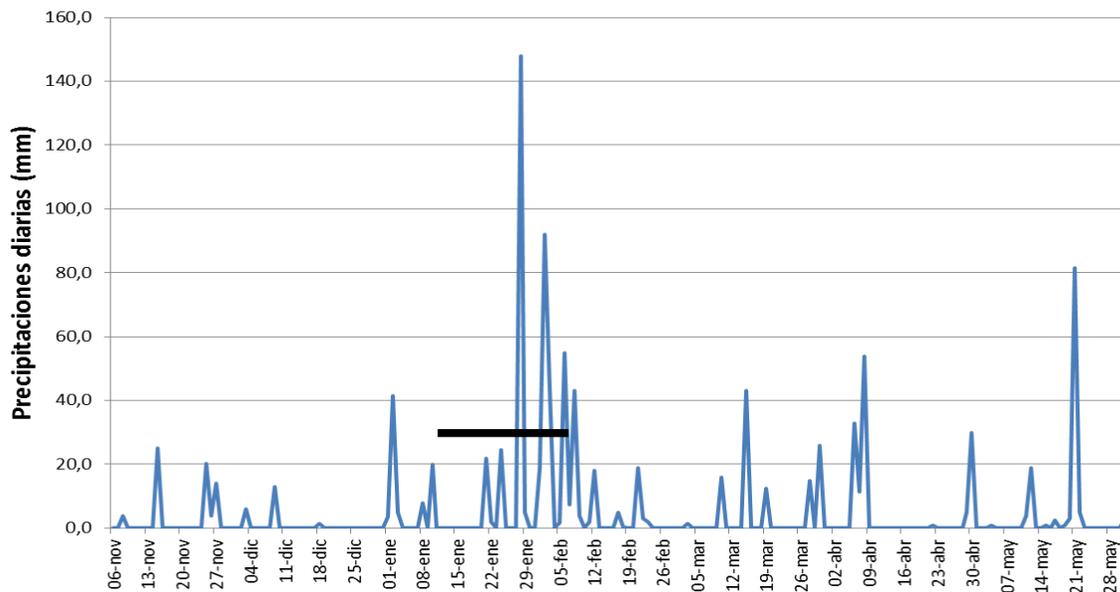
- Watts, W.R. (1974). Leaf extension in *Zea mays*. III. Field measurement of leaf extension in response to temperature and leaf water potential. *Journal of Experimental Botany* 25: 1085-1096.
- Zheng, H.J., Wu, A.Z., Zheng, C.C., Wang, Y.F., Cai, R., Shen, X.F., Xu, R.R., Liu, P., Kong, L.J. & Dong, S.T. (2009). QTL mapping of maize (*Zea mays*) stay-green traits and their relationship to yield. *Plant Breeding* 128: 54-62.

## ANEXO 1: Condiciones meteorológicas

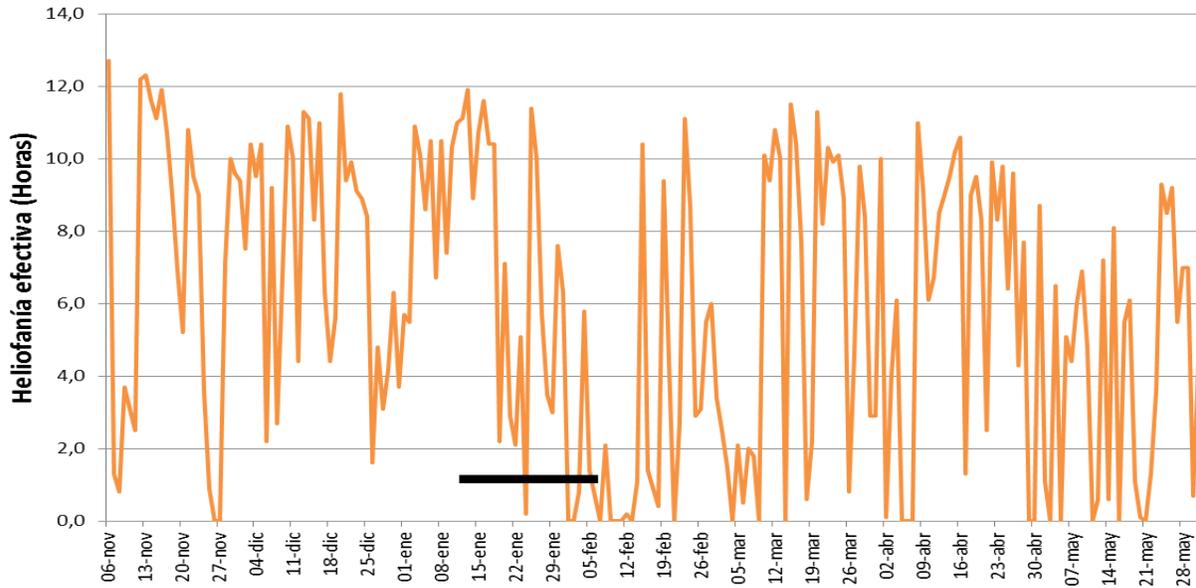
**1.a.** Evolución de los valores diarios de temperatura máxima, media y mínima, para el período Noviembre 2013-Mayo 2014. La barra negra indica el período crítico (fecha promedio de emisión de estigmas  $\pm 15$  días).



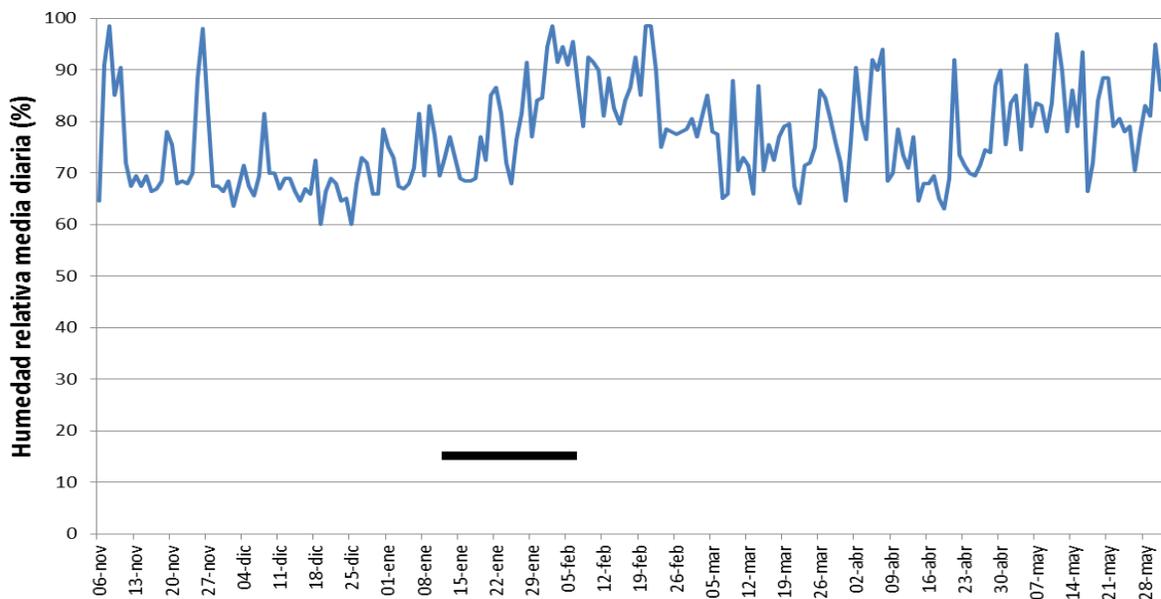
**1.b.** Evolución de los valores diarios de precipitaciones, para el período Noviembre 2013-Mayo 2014. La barra negra indica el período crítico (fecha promedio de emisión de estigmas  $\pm 15$  días).



**1.c.** Evolución de los valores diarios de heliofanía efectiva, para el período Noviembre 2013-Mayo 2014. La barra negra indica el período crítico (fecha promedio de emisión de estigmas  $\pm 15$  días).



**1.d.** Evolución de los valores diarios humedad relativa, para el período Noviembre 2013-Mayo 2014. La barra negra indica el período crítico (fecha promedio de emisión de estigmas  $\pm 15$  días).



## ANEXO 2: Histogramas de frecuencia

### Histogramas de frecuencias relativas de las variables fenotípicas evaluadas:

(a) número de hojas totales (NHT), (b) período siembra-R1 (PSR1), (c) intervalo anthesis-silking (ASI), (d) sumatoria del área foliar de HE, HE+1, HE+2 y HE+3 en floración (AFP), (e) persistencia de las hojas verdes en postfloración (PHVpf), (f y g) fracción de la RFA interceptada por el canopeo a los 39 y 47 días desde la fecha promedio de R1 (fRFAI39 y fRFAI47), (h, i, j, k, l, m, n, o) número relativo de hojas verdes a los 10, 25, 39, 51, 62, 76, 86 y 100 días desde R1 (NHVR10, NHVR25, NHVR39, NHVR51, NHVR 62, NHVR76, NHVR86 y NHVR100), (p) biomasa aérea por planta en madurez fisiológica (BAPmf), (q) rendimiento en granos por planta (RGP), (r) índice de cosecha (IC), (s) número de granos por planta (NGP) y (t) peso individual de grano (PG).

