

**ANÁLISIS DE LA TASA FOTOSINTÉTICA EN LÍNEAS E HÍBRIDOS DE MAÍZ
CULTIVADOS EN AMBIENTES CONTRASTANTES DE NITRÓGENO.**

Trabajo Final de Grado
del alumno

FACUNDO CURIN

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,

**ANÁLISIS DE LA TASA FOTOSINTÉTICA EN LÍNEAS E HÍBRIDOS DE MAÍZ
CULTIVADOS EN AMBIENTES CONTRASTANTES DE NITRÓGENO.**

Trabajo Final de Grado

del alumno

FACUNDO CURIN

Aprobada por el Tribunal Evaluador de Tesina

.....
Ing. Agr. María Rossini – Ing. Agr. Erika Mroginski – Ing. Agr. Susana Pistorale

.....
(Ing. Agr. Sofía Olmos)
Director

.....
(Ing. Agr. Fernanda González)
Co-director

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

Pergamino,

Tabla de contenidos

Agradecimiento	4
Resumen.....	5
Introducción.....	6
Objetivos e Hipótesis	10
Materiales y Métodos	11
Resultados	13
Discusión	18
Conclusiones.....	20
Anexos	21
Bibliografía	22

Agradecimientos

- En primer lugar a mis padres, como a toda mi familia, que no sólo por el apoyo incondicional sino porque me apoyaron en todos los “vaivenes” de la vida universitaria. Las cuales a su vez me inspiraron para hoy poder lograr uno de mis objetivos de la vida.
- A mis amigos que me acompañaron durante esta etapa de la vida y que formaron parte de este crecimiento.
- A mis directores, Dra. Sofia Olmos y Dra. Fernanda Gonzalez por aceptar realizar este trabajo final de grado, pero principalmente por ayudarme, guiarme, seguirme enseñando y por su predisposición todo este tiempo.
- Al grupo de Ecofisiología de Maíz del INTA Pergamino, tanto para Alfredo Cirilo, como Maria Otegui, por confiar y permitir tener el placer de realizar mis estudios en parte de sus experimentos.
- Al grupo de INFIVE (Conicet-La Plata), en especial a Juan José Guiamet y Mariana Antonnieta por compartir parte de su equipamiento y tiempo con motivo de poder realizar las mediciones.
- Al grupo de compañero de campo, Luciana Galizia, Ignacio Hisse, Alejandra Seco, Luis Blanco, Karina D’Andrea, que me acompañaron en gran experiencia de trabajar en el campo.
- Al Programa de Mejoramiento de Maíz de INTA Pergamino por facilitar el uso del material vegetal.

RESUMEN

La demanda de maíz incrementará en el futuro. Para satisfacer dicha demanda la producción deberá incrementarse a expensas de híbridos de mayor rendimiento y mejor eficiencia en el uso de nitrógeno (EUN). El objetivo general fue estudiar la variabilidad genética en la tasa de fotosíntesis, bajo condiciones de campo contrastantes en disponibilidad de nitrógeno (N), en líneas de maíz (e híbridos derivados), que difieren en atributos relacionados a EUN como su relación con el número final de granos por planta (NG). Se midió la tasa fotosintética en 6 líneas del INTA Pergamino (LP2, ZN6, B100, LP662, LP561, LP611) y seis híbridos derivados de LP2, B100 y ZN6, generándose un experimento dialélico método I de 3 parentales en dos ambientes de disponibilidad de N, sin fertilización (N0) y con fertilización de 200 kg.ha⁻¹ de N en V6 (N200). La tasa fotosintética fue estimada mediante la técnica de la fluorescencia de la clorofila a través de estimaciones de la tasa de transporte de electrones en 3 momentos del estadio reproductivo (floración, R1; mitad de llenado de granos, R3; y fin de llenado, R5). Como resultado, se encontró que la fotosíntesis presentó diferencias estadísticamente significativas en R1 entre líneas e híbridos, no evidenciando interacción genotipo×N. Durante R3 se encontró interacción genotipo×N significativa, observándose mayor variabilidad genotípica en la condición no limitante de nitrógeno. Para el muestreo de R5, no se registraron diferencias significativas entre genotipos ni entre niveles de N. Asimismo, se observó heterosis y efecto materno para tasa de fotosíntesis, existiendo un patrón de heterosis de los genotipos según el contenido de N del suelo y el estadio reproductivo analizado. Finalmente, un aumento en la tasa fotosintética durante floración estuvo relacionado con un aumento en el NG. Dicho incremento en el NG no se relacionó con un aumento de la fotosíntesis durante el llenado de grano (R3 y R5). Estos resultados demuestran que existe variación genética para la tasa fotosintética en los genotipos analizados y son promisorios para elucidar la relación de la fotosíntesis y la EUN en ensayos dialélicos y profundizar así en el estudio de las bases genéticas del rendimiento del maíz ante condiciones de nitrógeno limitantes.

INTRODUCCIÓN

El maíz, junto con el arroz y el trigo, forma parte de los principales cereales como fuente para la alimentación en el mundo. Se prevé un aumento de la demanda mundial de cereales por un aumento poblacional, estimado de 7 a más de 9 mil millones de habitantes para el 2050 (OCTE-FAO, 2013). Esta situación generará una presión sobre los sistemas agrícolas para garantizar el futuro abastecimiento de las múltiples demandas, en particular del maíz. Dos alternativas no excluyentes permitirían lograrlo: destinar más superficie a su cultivo y aumentar los rendimientos. Actualmente la superficie apta para la agricultura está casi en su totalidad aprovechada, por lo cual la única alternativa sería el aumento de la productividad por superficie. Gran parte del aumento de la producción de maíz durante la segunda mitad del siglo XX estuvo asociada a incrementos en la productividad por unidad de superficie (Andrade, 1992), debido tanto a las técnicas de manejo (incremento en uso de fertilizante y herbicidas) como al mejoramiento genético (Tollenar *et al.*, 1994). En este sentido varios trabajos concluyen que los incrementos en rendimientos en las últimas décadas se lograron por el mejoramiento de híbridos seleccionados bajo condiciones de estreses abióticos (Duvick, 1992 y 1997; Tollenar *et al.*, 1994 y 2000) indicando que existe ganancia genética ante esas condiciones de cultivo limitantes.

El área destinada al cultivo de maíz en Argentina no ha cambiado sustancialmente en la última década y, por lo general, se lo ubica en lotes con muy buena aptitud agrícola (Peretti, 2003). No obstante, aún en las mejores campañas, los rendimientos medios (*e.g.*, 6,6 T.ha⁻¹ en 2014/2015, FAOSTAT 2016) distan fuertemente de los rendimientos potenciales de 15 - 19 T ha⁻¹ (Andrade, 1992; Cassman *et al.*, 2003). El déficit hídrico y el insuficiente abastecimiento de nutrientes principalmente nitrógeno (N) (este último debido a su alto costo), serían las principales causas de las diferencias de rendimientos. El aumento de la productividad basada en híbridos que no mejoren su eficiencia en el uso del N y, por ende, incrementen el uso de fertilizantes, plantea no sólo un problema económico sino también ambiental debido al elevado requerimiento energético de la producción de fertilizantes nitrogenados, que compite con las crecientes demandas de energía de la población, y riesgos de contaminación de napas y cursos de agua por

lixiviación dada su elevada movilidad en el suelo (Ongley, 1997). Debido a ello, para aumentar en forma sustentable la productividad, se ha planteado como necesidad mejorar el rendimiento potencial de los híbridos asociado a una mayor eficiencia de uso de nitrógeno (EUN).

En lo que respecta a la mejora genética, las dos principales etapas del desarrollo de cultivares de maíz, vigentes aún hoy en los programas de mejoramiento, corresponden a la generación de líneas endocriadas y a la identificación de las mejores combinaciones de éstas (líneas parentales) para producir híbridos superiores (Shull, 1948; Hallauer y Miranda, 1988). Estos procedimientos tienen como objetivo explotar lo que se conoce como heterosis, que es el incremento en el desempeño de la progenie del cruzamiento (F_1) en comparación con sus líneas parentales. En este sentido, un método ampliamente utilizado para estudiar la respuesta de heterosis de un atributo es su análisis mediante experimentos dialélicos (Griffing, 1956). El mismo es una clase de experimentos de cruzamientos entre genotipos (e.g líneas endocriadas, poblaciones) para estimar aptitud combinatoria general, aptitud combinatoria específica y efectos maternos entre ellos (Hallauer y Miranda, 1988), para esto último se realizan cruzamientos directos y recíprocos donde las líneas se utilizan como progenitor femenino (A) y masculino (B), siendo el cruzamiento directo $A \times B$, su recíproco $B \times A$. El grado de heterosis en un cruzamiento simple depende del grado de divergencia entre los progenitores, del efecto materno y de la epistasis (Falconer, 1989). En el caso de un cruzamiento F_1 es posible separar en el efecto de heterosis los componentes de efecto materno de los no maternos, comparando los valores fenotípicos de híbridos recíprocos.

La comprensión de la respuesta a la disponibilidad de N en el caso de líneas endocriadas, material base para la producción de híbridos, se limita a unos pocos estudios (Laffite y Edmeades, 1994; Bänziger *et al.*, 2002; Hirel *et al.*, 2004) y sólo en dos trabajos (D'Andrea *et al.*, 2006 y 2009) se analiza integralmente la respuesta de los determinantes eco-fisiológicos del rendimiento ante ambientes de N contrastantes. En dichos trabajos realizados en la EEA INTA Pergamino con líneas de maíz del Programa de Mejoramiento de Maíz, en colaboración con el grupo de eco-fisiología de UBA-CONICET, se evaluaron los atributos asociados a la EUN, e.g. generación y permanencia de área foliar, producción y partición de biomasa, *stay-*

green (senescencia demorada) y concentración de N foliar en un número elevado de genotipos identificándose 6 líneas estabilizadas contrastantes para algunas de las características estudiadas (Tabla 1). Esta gran variabilidad genética para atributos relacionados a la EUN brinda una herramienta óptima para estudiar las bases genéticas y fisiológicas de dichas diferencias. Sin embargo, este grupo de líneas aún no se ha caracterizado en atributos relacionados directamente a la tasa fotosintética bajo diferentes condiciones de N.

Tabla 1. Evaluación fenotípica de rasgos eco-fisiológicos relacionados con la EUN (columna de la izquierda): Nfe, concentración de N foliar; IAF máx, índice de área foliar máximo; Radiación interceptada, fracción de la radiación incidente fotosintéticamente activa interceptada por el canopeo; K, coeficiente de atenuación lumínica; EUR, eficiencia de uso de la radiación (D'Andrea *et al.*, 2006). Los rasgos positivos se indicaron con flechas verdes y los rasgos negativos con flechas rojas.

Rasgos		B100	ZN6	LP611	LP561	LP662	LP2
↓	Nfe		↓		↑		↓
↑	IAF máx	↓			↓	↑	↓
↑	Radiación Interceptada	↓		↑		↑	
↑	K	↑	↑	↓	↑	↓	↑
↑	EUR			↓		↓	
↓	Senescencia postfloración		↓	↓	↓		↑
Rasgos positivos		1	3	2	2	2	2
Rasgos negativos		2	0	2	2	2	2

La tasa fotosintética de una hoja a saturación lumínica presenta una relación curvilínea con la concentración de N en hoja, de forma que reducciones en la concentración de N foliar, debido a una menor disponibilidad de N, reducen su tasa (Sinclair y Horie, 1989). Si existiera variabilidad genética en dicha curva, entonces se podría mejorar la tasa fotosintética por unidad de N, contribuyendo a mejorar la EUN. Si bien existen otras variables eco-fisiológicas que presentan respuesta ante niveles

de N limitantes como es la tasa de expansión foliar, la tasa fotosintética de la hoja en ciertos estudios previos ha demostrado ser una de las variables más susceptibles de variaciones ante N limitantes (Vos *et al.*, 2005). Por este motivo en este trabajo nos centramos en estimar la tasa fotosintética mediante la utilización de un fluorómetro como variable expeditiva para caracterizar el estado de las plantas ante condiciones de N limitantes a campo.

En el cultivo de maíz, uno de los factores principales del rendimiento es el número de granos (NG) producidos por unidad de área, el cual queda determinado en un período de 30 días centrado en floración (Cirilo y Andrade, 1994). Dado que la tasa de crecimiento del cultivo en dicho período está relacionado con el NG, una elevada tasa fotosintética durante floración (representando el estado de actividad de la “fuente” al inicio de llenado de granos) estaría asociada con un incremento en ese componente, consecuentemente la tasa fotosintética tendería a aumentar durante el llenado de grano por un incremento en la demanda de los “destinos”, los granos (Sadras *et al.*, 2000, Borrás y Otegui 2001). La comparación sobre la relación entre NG y la tasa fotosintética medida en floración permite estimar el estado del aparato fotosintético en el inicio del llenado de granos y la capacidad de la planta para utilizar esos recursos (relación "Fuente"/"Destino"). Por ello, como objetivo secundario esta tesis se propone evaluar la relación entre la tasa fotosintética en floración y el NG generados como también la relación existente entre el NG y la tasa fotosintética durante el llenado de granos en las líneas e híbridos estudiados.

OBJETIVOS

El objetivo general fue estudiar la variabilidad genética en la tasa fotosintética, bajo condiciones contrastantes en disponibilidad de N a campo, en líneas de maíz e híbridos derivados que difieren en atributos relacionados a EUN, y su relación con el NG por planta.

Los objetivos específicos consistieron en evaluar en líneas e híbridos derivados, bajo condiciones contrastantes de N a campo:

- La variabilidad genotípica en la tasa de fotosíntesis en tres momentos del estadio reproductivo (R1, R3 y R5, en la escala de Ritchie y Hanway (1982)).
- Las relaciones fenotípicas entre progenitores y sus híbridos derivados para estimar heterosis y efecto materno sobre la tasa fotosintética.
- La relación que existe entre el número de grano final por planta y la tasa fotosintética durante floración, mitad de llenado y final de llenado.

HIPÓTESIS

Las hipótesis planteadas son:

- Existe variabilidad genotípica en la tasa de fotosíntesis en las líneas endocriadas y sus híbridos derivados bajo condiciones contrastantes de nitrógeno.
- En híbridos simples F_1 existe un efecto de heterosis para la tasa fotosintética, dicho efecto puede descomponerse en efecto materno mediante la prueba de híbridos recíprocos.
- Aquellas líneas e híbridos con mayor tasa fotosintética en floración presentan mayor NG.
- Un aumento en el NG fijado en floración aumentaría la tasa fotosintética durante el llenado efectivo de granos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

El material genético estuvo constituido por seis (6) líneas endocriadas estabilizadas, caracterizadas previamente por su EUN (LP2, ZN6, B100, LP662, LP561, LP611) pertenecientes al Programa de Mejoramiento de Maíz de INTA Pergamino y seis (6) híbridos simples recíprocos derivados de tres de las líneas (LP2, ZN6 y B100) generándose un experimento dialélico método I de Griffing (1956) con 3 parentales (LP2xB100, B100xLP2, ZN6xLP2, LP2xZN6, B100xZN6, ZN6xB100). Los mismos fueron sembrados en el campo experimental del INTA Pergamino, en dos ambientes contrastante de nitrógeno, sin fertilización (N0) y con una aplicación en seis hojas expandidas (V6) de 200 kg.ha⁻¹ de N (N200) en el año 2013, sin limitaciones hídricas, libre de malezas y enfermedades. Se realizó un muestreo de suelo para determinar el nivel de N inicial obteniendo valores de 139.8 kg.ha⁻¹ de N-NO⁻³. El análisis fue realizado en el laboratorio de INTA Pergamino mediante la metodología de Nitrógeno Kjeldahl.

Evaluación fenotípica

La unidad experimental estuvo constituida por parcela de tres surcos de 5 m de largo y entresurcos de 0,7 m. Se determinó la tasa fotosintética determinada mediante la metodología propuesta por Genty *et al.* (1989) utilizando un fluorómetro (*Pulse-amplitude modulated fluorimeter*, FMS2, Hansatech UK) (Anexo 1), en tres momentos del estadio reproductivo, floración R1 (16/01/2014), mitad de llenado R3 (13/02/2014) y final de llenado R5 (28/02/2014), escala de Ritchie y Hanway (1982). Las determinaciones se realizaron en días diáfanos, en dos (2) plantas seleccionadas al azar sobre hojas de la espiga que permanecían iluminadas, logrando un aparato fotosintético activo al momento de realizar la medición. Para determinar la relación existente entre NG y tasa fotosintética, se recolectaron siete (7) espigas representativas de la parcela, las cuales fueron trilladas y en las mismas se contó el número de granos. En este sentido, al tomarse ambas mediciones en plantas al

azar, al establecer las relaciones se tomó el promedio de la parcela de ambos caracteres.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico el diseño utilizado fue un diseño de parcelas divididas en bloques completamente aleatorizados, donde la parcela principal fue el N. Los resultados fueron analizados mediante el programa INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2013). Para evaluar la significancia de la heterosis y efecto materno, se realizaron contrastes ortogonales, en el primer caso se contrastaron todas las líneas parentales de los híbridos (LP2, B100 y ZN6), en el segundo caso se contrastaron todos los híbridos directos con sus híbridos recíprocos (es decir la media de los genotipos B100xLP2, ZN6xLP2, ZN6xB100 contra la media sus recíprocos LP2xB100, LP2xZN6, B100xZN6), los mismo fueron realizados en el mismo programa estadístico y chequeándose la ortogonalidad.

La heterosis específica en cada cruzamiento se calculó como:

$$\text{Heterosis (\%)} = \frac{\text{Media de los híbridos} - \text{Media de los parentales}}{\text{Media de los parentales}} \times 100$$

El modelo estadístico empleado fue:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \gamma_k + (\tau\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (e)_{ijk}$$

y_{ijk} : es el valor observado de la parcela en el i bloque, en el j nivel de nitrógeno y en el k genotipo

μ : la media general del ensayo

τ_i : el efecto del bloque i

β_j : el efecto del j nivel de nitrógeno

$(\tau\beta)_{ij}$: el efecto de la interacción del i bloque y el j nivel de nitrógeno

γ_k : el efecto del k genotipo

$(\tau\gamma)_{ik}$: el efecto interacción del i bloque y el k genotipo

$(\beta\gamma)_{jk}$: el efecto interacción del j nitrógeno y el k genotipo

$(e)_{ijk}$: el error experimental de la parcela con i nivel de nitrógeno, en el j bloque, con k genotipo.

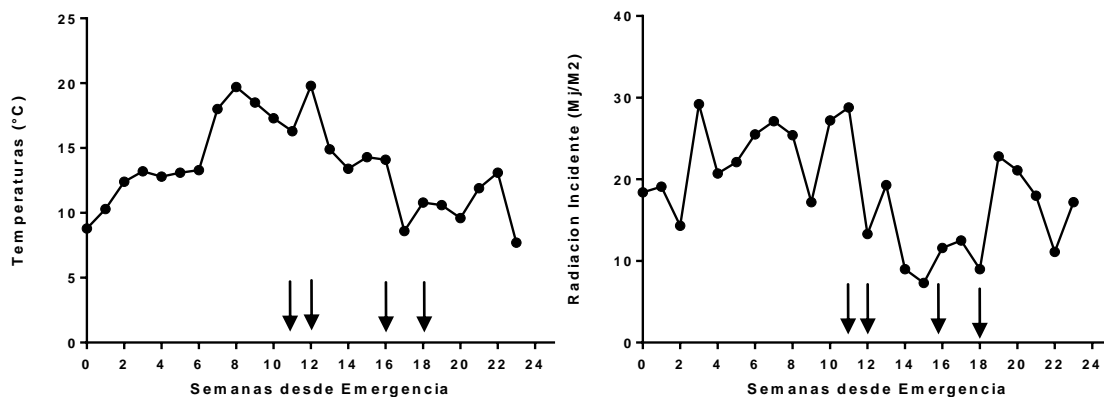
Con el objetivo de determinar la relación existente entre la tasa fotosintética y NG se realizó un análisis de regresión lineal simple la cual fue testada mediante la prueba t para observar la significancia de los parámetros de dicha regresión. Para la misma se utilizó el programa JMP Pro 12 (SAS Institute Inc., 2011).

RESULTADOS

Caracterización ambiental

Las temperaturas presentaron valores cercanos a los 20°C en los meses de diciembre y enero (semana 12), con un descenso a partir de la semana 13, debido al exceso de precipitaciones registradas a partir de esa fecha. Esto a su vez produjo una disminución de la radiación incidente a partir de las semanas 12-13 (finales de enero) hasta la semana 18 ocasionado por un régimen de nubosidad alta y frecuente durante el llenado de grano en el cultivo, dificultando y limitando los días aptos para el registro de la tasa fotosintética (Fig. 1).

Fig. 1. Radiación solar incidente (MJ m^{-2}) y temperatura media semanal. Datos registrados desde octubre de 2013 hasta abril de 2014 en Pergamino, Buenos Aires. La primera flecha indica el momento de floración (promedio de todos los genotipos) y las tres restantes tres momentos de medición de la tasa fotosintética respectivamente.



Caracterización fotosintética de líneas e híbridos

Los valores de tasa de fotosíntesis y número de granos presentaron distribución normal corroborada mediante la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks y se observó homocedasticidad lográndose cumplir los supuestos para el análisis de varianza. Durante la R1 se observaron efectos significativos sobre la tasa fotosintética para la fuente de variación nitrógeno y genotipos, pero no para su interacción (Tabla 2). Durante R3 se encontraron efectos significativos en la

interacción nitrógeno por genotipo como también para las otras tres fuentes de variación. Por otro lado, hacia R5, no se observaron efectos significativos para las fuentes de variación analizadas (Tabla 2).

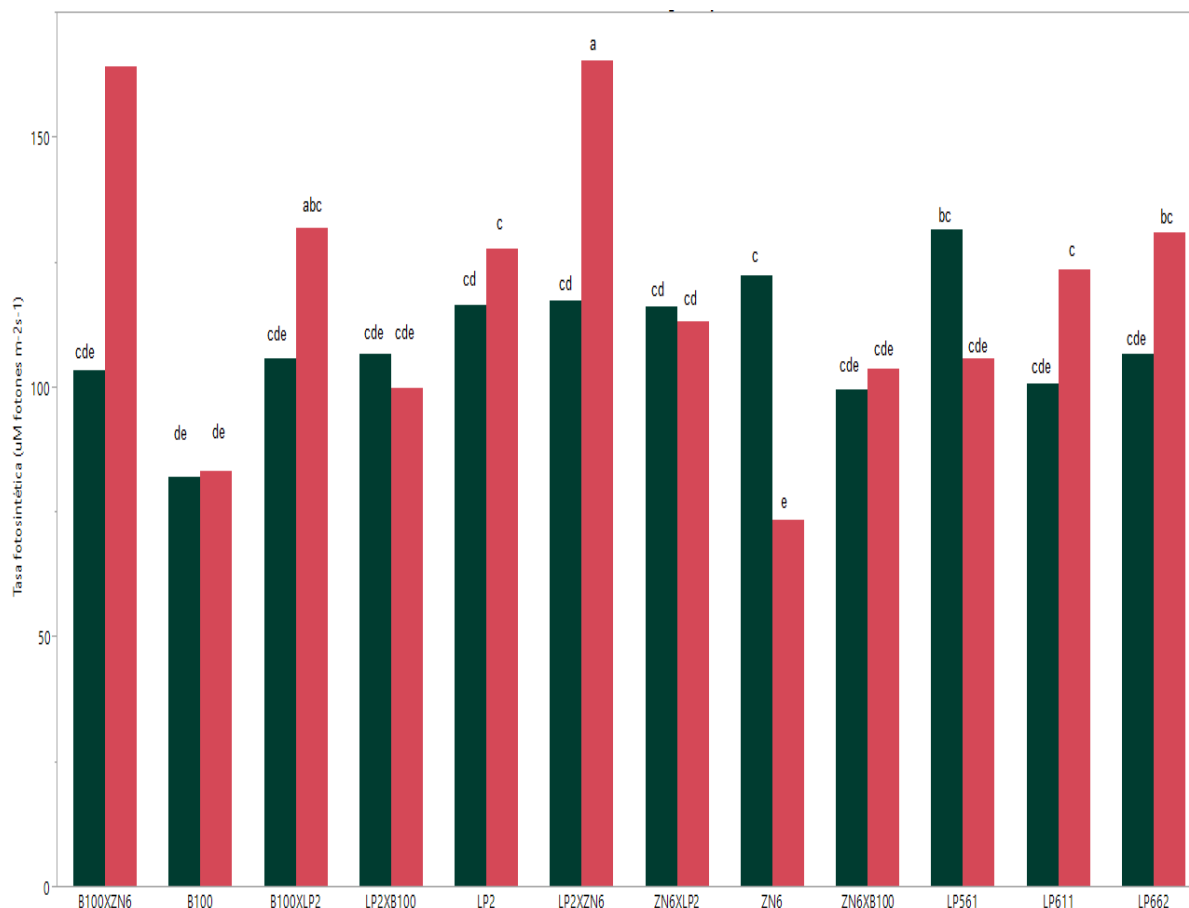
En R1, todas las líneas e híbridos presentaron en promedio mayor tasa fotosintética bajo N200 en comparación con N0. Dentro de las líneas, la LP662 presentó mayor tasa que LP2 y LP611 (Tabla 2). En cuanto a los híbridos los mismos presentaron en general valores superiores a sus parentales y solo una línea presentó valores similares a los híbridos, LP662 (Tabla 2).

En R3, la tasa fotosintética respondió a la interacción genotipo x N. Dentro de las líneas endocriadas, B100 y LP2 fueron las que presentaron menores disminuciones en la tasa fotosintética ante condiciones de estrés, siendo B100 de menor valor que LP2, en el caso de ZN6 fue la única que presentó mayor tasa fotosintética en condiciones de N limitante. Al observar los híbridos solamente B100xZN6 y LP2xZN6 presentaron disminuciones significativas en la tasa fotosintética ante una condición limitante de N.

Tabla 2. Valores medios de las variables analizadas correspondientes a tres momentos del estadio reproductivo (R1, R3, R5) Valores de significancia ***, **, *, ns p<0,001, p<0,01, p<0,05 y no significativa, respectivamente. La tasa fotosintética se encuentra expresada en tasa de transporte de electrones ($\mu\text{Mol fotones m}^{-2}\text{s}^{-1}$).

Tasa Fotosintética R1			Tasa Fotosintética R3			Tasa Fotosintética R5			Número de Granos		
Nitrógeno	Medias	*	Nitrógeno	Medias	*	Nitrógeno	Medias	ns	Nitrógeno	Medias	ns
N200	154,72	a	N200	118,7	a	N200	99,24		N200	374,54	
N0	145,3	b	N0	109,2	b	N0	87,91		N0	406,65	
Genotipos	Medias	**	Genotipos	Medias	**	Genotipos	Medias	ns	Genotipos	Medias	**
ZN6XB100	165,01	a	LP2XZN6	141,5	a	LP662	125,34		B100XZN6	500,08	a
LP662	161,84	ab	B100XZN6	133,9	ab	B100XZN6	106,8		ZN6XB100	494,58	a
B100XZN6	160,97	ab	LP2	122,3	abc	LP611	98,67		LP2XB100	466,88	a
B100XLP2	160,96	ab	LP662	119	abc	LP561	97,16		LP2XZN6	463,1	abc
LP2XB100	159,88	ab	B100XLP2	119	abc	ZN6XLP2	93,91		LP611	452,95	abc
LP2XZN6	153,17	abc	LP561	118,8	abc	LP2XZN6	90,67		B100XLP2	451,8	abc
ZN6XLP2	152,19	abc	ZN6XLP2	114,9	bc	B100XLP2	87,3		ZN6XLP2	437,61	abc
LP561	143,44	abc	LP611	112,3	bc	ZN6	86,9		LP2	370,58	bc
ZN6	141,39	abc	LP2XB100	103,5	cd	ZN6XB100	85,96		LP662	359,83	c
B100	138,37	bc	ZN6XB100	101,8	cd	B100	84,79		LP561	258,66	d
LP2	133,83	c	ZN6	98,04	cd	LP2	83,82		ZN6	236,6	d
LP611	129,11	c	B100	82,68	d	LP2XB100	81,65		B100	215,07	d
G x N	ns		G x N	**		G x N	ns		G x N	ns	

Figura 2. Valores de tasa fotosintética durante **R3** en las líneas e híbridos evaluados, N0 (verde) y N200 (rosado). Letras diferentes indican diferencia estadísticamente significativa según la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher ($p < 0,05$). El orden fue establecido para mostrar diferencias entre híbridos y parentales en tasa fotosintética.



Estimación de heterosis y del efecto materno

En R1, el valor de heterosis para tasa fotosintética fue significativo para ambos ambientes (Tabla 3). Los valores de heterosis fueron del 2,6 al 24% (Tabla 5). Los híbridos recíprocos resultaron significativos solo en el ambiente de N limitante ($p < 0,05$) (Tabla 3). En este ambiente se observó un comportamiento diferencial de LP2, logrando mayor grado de heterosis cuando la misma era utilizada como parental masculino (10,6 y 6,1 vs 4,5 y 2,6 %).

En R3, hubo heterosis (11 al 52,3%) y efecto materno solo fue significativo en el ambiente no limitante de N (Tabla 4). Se puede observar que B100 utilizado como parental femenino produce híbridos con mayores valores de heterosis, mientras lo contrario sucede con ZN6.

Tabla 3. Contrastes ortogonales para valores para tasa fotosintética en **R1**. Donde g.l. son grados de libertad, CME es el cuadrado medio error, L corresponde a las líneas y H a los híbridos.

Nitrógeno	Variable	g.l.	CME	F	p-valor
N0	L vs H	1	2828,07	7,76	0,0108
	Recíprocos	1	1578,87	4,33	0,0493
N200	L vs H	1	2390,52	6,56	0,0178
	Recíprocos	1	1362,71	3,74	0,0661

Tabla 4. Contrastes ortogonales para valores de tasa fotosintética en **R3**. Donde g.l. son grados de libertad, CME es el cuadrado medio error, L corresponde a las líneas y H a los híbridos.

Nitrógeno	Variable	g.l.	CME	F	p-valor
N0	L vs H	1	9,59	0,04	0,8498
	Recíprocos	1	8,02	0,03	0,8625
N200	L vs H	1	7311,01	27,98	<0,0001
	Recíprocos	1	10438,53	39,95	<0,0001

Tabla 5. Valores de heterosis específicos para cada combinación de cruzamientos, en híbridos cultivados bajo condiciones de nitrógeno limitante (N0) y alta disponibilidad de nitrógeno (N200), y en promedio (General) para ambas condiciones de crecimiento.

Híbridos	Floración			Mitad de Llenado		
	N 0	N200	General	N0	N200	General
B100xLP2	10,6%	19,4%	15,4%	6,2%	20,0%	13,1%
LP2xB100	4,5%	24,0%	14,8%	7,1%	-5,6%	0,8%
B100xZN6	11,8%	14,3%	13,1%	1,1%	52,3%	26,7%
ZN6xB100	11,0%	19,3%	15,2%	-2,7%	24,6%	10,9%
LP2xZN6	2,6%	16,4%	10,1%	-1,6%	39,1%	18,7%
ZN6xLP2	6,1%	13,0%	9,5%	-2,7%	11,1%	4,2%

Relación entre la actividad fotosintética y el número de granos por planta

Se pudo observar una tendencia positiva significativa ($b=2,234$), donde un 64 % de la variación en la tasa fotosintética es explicada por el NG (R^2 0,64) (Figura 3, Tabla 6). Mientras que durante la R3 y R5 si bien la tendencia se mantuvo positiva, pero las mismas no resultaron significativas (Tabla 6).

Figura 3. Relación Fuente-Destino (Tasa fotosintética vs Número de granos) durante floración. Los símbolos O corresponden a valores de N0 y los símbolos ● corresponden a valores de N200.

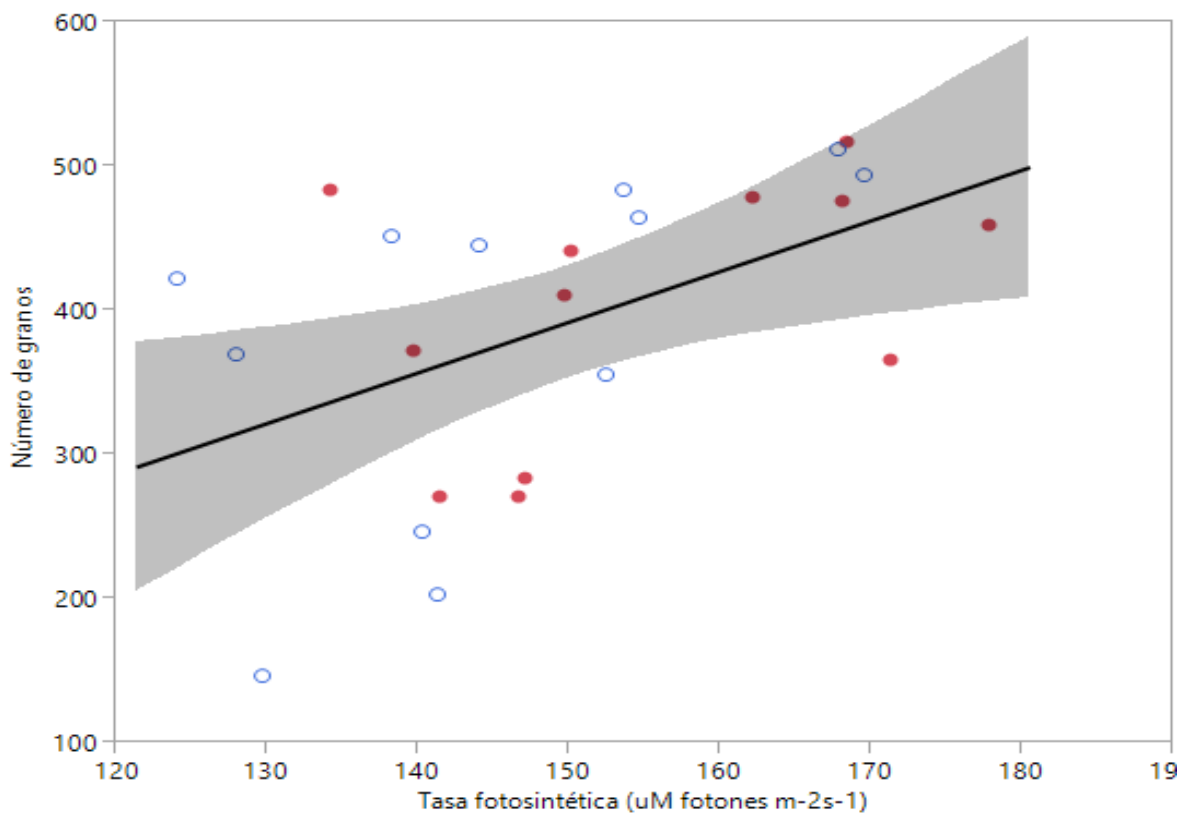


Tabla 6. Resumen de ajuste de la relación NG con las demás variables fotosintéticas. Valores de p-valor < 0,05 son estadísticamente significativos.

Variables		Ecuación	R ²	P-valor
Tasa fotosintética R1	NG	$Y = 2,234X + 45,11$	0,64	0,0018
NG ×	Tasa fotosintética R3	$Y = 0,06209X + 90,29$	0,08	0,3656
NG ×	Tasa fotosintética R5	$Y = 0,01276X + 98,45$	0,01	0,8146

DISCUSIÓN

La tasa fotosintética se encuentra afectada entre otros factores por la disponibilidad de N foliar en la hoja (Field y Mooney, 1986; Sage y Pearcy, 1987; Walcroft *et al.*, 1997) debido a que más del 50 % del N foliar se encuentra en los cloroplastos (Makino y Osmond, 1991). La importancia del estudio del efecto del N en suelo radica en que, durante el llenado de granos, se produce una degradación en las hojas viejas como en hojas nuevas para la translocación del N (principalmente almacenado en la enzima Rubisco) hacia los órganos reproductivos (Ta y Weiland, 1992). Evidencias previas indican que trascurrido 15 días postfloración se produce una reducción de contenido foliar en las hojas de la espigas (Pommel *et al.*, 2006) existiendo variabilidad genética en estos procesos. Está reducción estaría asociada a una disminución en la tasa fotosintética, tal como se observó en este trabajo a lo largo del llenado de granos. Estudios previos demuestran que LP2 presenta bajos valores de N en hoja sumado a una alta EUN en condiciones limitantes de nitrógeno (D'Andrea *et al.*, 2009) esto explicaría la menor respuesta a la disminución de la tasa fotosintética en condiciones limitante de N durante R3. Si bien la línea americana B100 presenta una baja EUN en condiciones limitantes, la respuesta de su tasa fotosintética a condiciones diferenciales de disponibilidad de N fue también menor, es por ello que las implicancias fisiológicas de estos patrones de senescencia, la tasa fotosintética y su relación con la EUN y el rendimiento quedan aún por ser profundizadas.

En estudios previos realizados en tasa fotosintética se observó variabilidad genética entre los materiales con similares valores de los parámetros estudiados (Earl y Tollenaar, 1998; Earl y Ennah, 2004), como el del rendimiento cuántico del fotosistema II (Φ_{PSII}) (0,190-0,411), variable utilizada para calcular la tasa fotosintética según la metodología propuesta, tanto en maíz (Ding *et al.*, 2005) como en sorgo (Strand *et al.*, 2012).

Los ensayos dialélicos han demostrado ser satisfactorios para estudiar la variación de atributos agronómicos en maíz para estreses abióticos (Munaro *et al.*, 2008, Vancentovic *et al.*, 2015; Mahajan *et al.*, 1993). Estos permiten realizar a su vez comparaciones genéticas entre líneas evaluando características como aptitud combinatoria, general y específica, como también la heterosis y el efecto materno.

En este sentido aquellos trabajos donde se estudió la tasa fotosintética en el período de llenado de granos concluyen que los valores de vigor híbrido o heterosis, aumenta a medida que avanza el llenado de grano (Ahmadzadeh *et al.*, 2004), siendo estos resultados contradictorios a los observados en el presente trabajo. Asimismo, solo en pocos trabajos (Cai *et al.*, 2012; Crosbie *et al.*, 1978) se analiza el efecto de los cruzamientos recíprocos para evaluar efecto materno, encontrándose resultados contradictorios entre los mismos lo que sugeriría que dicho efecto depende de los materiales utilizados. En este sentido, el efecto materno estaría dado por las interacciones entre el complemento de ADN extra nuclear que afectarían la expresión fenotípica en cruzamientos (Roach y Wulff, 1987).

Por otro lado, retomando el efecto de heterosis, en Ahmadzadeh *et al.* (2004) se concluye que existe un efecto de heterosis sobre la tasa fotosintética, pero que la misma no estaría relacionado con un aumento en el NG por parte de los híbridos (mayor número de destinos) concordando con los resultados encontrados en el presente trabajo, donde no se observó una relación positiva significativa entre el NG y la tasa fotosintética durante el llenado efectivo de granos. Si bien varios autores (Sadras *et al.*, 2000; Herold, 1980; Sheen, 1994) argumentan nte el llenado de granos, en este trabajo no se manifestó dicha que un aumento en el número de destinos aumentaría la tasa fotosintética dura relación. Es probable que otros factores estén afectando la misma tales como la duración del área foliar (DAF), resultados encontrados en Seco *et al.* (2014) en líneas e híbridos utilizados en el presente trabajo.

Tal como era de esperar el aumento de la tasa fotosintética alrededor de floración produjo un aumento significativo en el número de granos por planta (Cirilo y Andrade, 1994; Caviglia *et al.*, 2008), debido a que en dicho período se determina el NG en la planta.

CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente trabajo se puede concluir:

- La variabilidad genética observada entre líneas e híbridos que difieren en EUN para fotosíntesis, sugiere que dicho carácter resultaría de utilidad para ser implementado en un programa de mejoramiento con el objetivo de obtener materiales con mayores EUN.
- El efecto de heterosis y materno entre líneas indica que existe variación genética para heterosis y que la misma se puede descomponer en efecto materno mediante la evaluación de híbridos recíprocos.
- La relación positiva y significativa entre la tasa fotosintética en floración y el número de grano nos sugiere que es importante lograr híbridos que posean la capacidad de lograr mayores tasas en dicho período.
- La inexistencia de una relación significativa entre NG y tasa fotosintética durante el período de llenado efectivo de grano (R3 y R5), sugiere que no existiría una limitación por destino en este set de líneas e híbridos o que serían otros factores los que estarían afectando limitando la actividad de la "Fuente" en la relación "Fuente"/"Destino", como ser la duración del área foliar (DAF).
- Estos resultados preliminares son promisorios y permitirán profundizar en el estudio de las bases genéticas de la productividad del maíz ante condiciones de nitrógeno limitantes.

ANEXO 1. FOTOSÍNTESIS

La fotosíntesis puede ser estimada mediante dos metodologías de amplia difusión. Una de ellas es la de intercambio de CO₂ (Tamayo *et al.*, 2001) y la otra mediante el análisis de la fluorescencia de la clorofila (Maxwell y Johnson, 2000), utilizada en el presente trabajo. En la planta, la energía solar absorbida por las moléculas de clorofila, puede tomar tres caminos metabólicos: 1. Generación de energía química y producción de ATP (fotosíntesis propiamente dicha), 2. Exceso de energía disipado en forma de calor y 3. Re-emisión al exterior como fluorescencia. Estos procesos ocurren en continua competencia unos con otros, por ende el aumento de uno disminuye el otro. Mediante un fluorómetro se puede medir la cantidad de energía re-emitida en forma de fluorescencia, antes y después de la exposición a un determinado flash lumínico. De esta forma se determina indirectamente la cantidad de energía destinada a los otros dos procesos (fotosíntesis y disipación de calor). Ambos procesos representan **la tasa de transporte de electrones (J)** que ocurre en un tejido vegetal en un momento puntual. La relación que existe entre la energía que ingresa al canopeo y la re-emitida como fluorescencia fue descrita por Genty *et al.* (1989) definida como, rendimiento cuántico del fotosistema II (Φ_{PSII})

$$\Phi_{PSII}: (Fm' - Ft) / Fm'$$

Donde Fm' es la fluorescencia que se produce después de emitido al flash lumínico, y Ft es la fluorescencia basal, o sea la que se emite constantemente por parte del tejido vegetal. A partir de dicha ecuación se puede calcular J:

$$(J): \Phi_{PSII} \times RFA \times 0,5$$

Donde Φ_{PSII} es el rendimiento cuántico del fotosistema II y RFA es la radiación fotosintéticamente activa. Se utiliza una constante de 0,5 debido a que PSII representa la mitad del valor de J. Si bien estas ecuaciones no discriminan las diferencias entre la energía disipada en forma de calor y la de la fotosíntesis en sí, resulta una buena aproximación de la cantidad de CO₂ fijado por las plantas y sobre todos en aquellas que presentan niveles mínimos de foto-respiración como son las plantas C4 (Edwards y Voznesenskaya, 2011).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmadzadeh, A., Lee, E., Tollenar, M. 2004. Heterosis for Leaf CO₂ Exchange Rate during the Grain-Filling Period in Maize. *Crop Science* 44: 2095–2100.
- Andrade, F. 1992. Radiación y temperatura determinan los rendimientos máximos de maíz. *Bol. Téc. N° 106 EEA INTA Balcarce*.
- Bänziger, M., Edmeades, G. y Lafitte, H. 2002. Physiological mechanisms contributing to the increased N stress tolerance of tropical maize selected for drought tolerance. *Field Crops Research*. 75: 223-233.
- Cai, Q., Wang, L., Yao, W., Zhang, Y., Liu, L., Yu, L., Fan, X. 2012. Diallel Analysis of Photosynthetic Traits in Maize. *Crop Science* 52:551-559.
- Cassman, K., Dobermann, A., Walters, D., Yang, H. 2003. Meeting cereal demand while protecting natural resources and improving environmental quality. *Annual Review Environment Resource* 28:315–58.
- Caviglia, O., Melchiori, R., Kemmerer, A., Van Opstal, N., Gregorutti V. 2008. Relaciones entre la eficiencia en el uso del nitrógeno y de la radiación en maíz, Actualización Técnica. Maíz, Girasol y Sorgo. Serie Extensión n° 44, INTA.
- Cirilo, A. y Andrade, F. 1994. Sowing date and maize productivity. II. Kernel number determination. *Crop Science* 34: 1044–1046.
- Crosbie, T., Mock, J., Pearce, R. 1978. Inheritance of photosynthesis in a diallel among eight maize inbred lines from Iowa Stiff Stalk Synthetic. *Euphytica* 27: 657–664.
- D'Andrea, K., Otegui, M., Cirilo, A., Eyhéabide, G. 2006. Genotypic Variability in Morphological and Physiological Traits among Maize Inbred Lines Nitrogen Responses. *Crop Science* 46: 1266-1276.
- D'Andrea, K., Otegui, M., Cirilo, A., 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., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C. 2013. InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Ding, L., Wang, K.J., Jiang, G.M., Liu, M.Z., Niu, S.L., Gao, L.M. 2005. Post-anthesis changes in photosynthesis traits of maize hybrid released in different years.

- Field Crops Research 93: 108-115.
- Duvick, D. 1992. Genetic contributions to advances in yield of U.S. maize. *Maydica* 37: 69-79.
- Duvick, D. 1997. What is yield? In: Edmeades, G.O., Bänziger, B., Mickelson, H.R., Pena-Valdivia, C.B. (Eds.), *Developing drought and low N-tolerance maize*. CIMMYT, El Batán, Mexico: 332-335.
- Earl, H. y Tollenaar, M. 1998. Relationship between thylakoid electron transport and photosynthetic CO₂ uptake in leaves of three maize (*Zea mays L.*) hybrid. *Photosynthesis Research* 58: 245–257.
- Earl, H. y Ennah, S. 2004. Estimating photosynthetic electron transport via chlorophyll fluorometry without Photosystem II light saturation. *Photosynthesis Research* 82: 177–186.
- Edwards, G. y Voznesenskaya, E. 2011. Chapter C4 Photosynthesis: Kranz Forms and Single-Cell C4 C4 in Terrestrial Plants. *The C4 Photosynthesis and Related CO₂ Concentrating Mechanisms*: 29-61.
- Falconer, D. 1989. Heterosis. Inbreeding and crossbreeding: I Changes of mean values. En: *Introduction to Quantitative Genetics*. Third Edition. Longman Scientific & Technical ed. New York pag.247-263.
- FAOSTAT. Actualizada 26 de Abril 2016. <http://faostat3.fao.org>
- Field, C. y Mooney H. 1986. The photosynthesis-nitrogen relationship in wild plants. *The Economy of Plant Form and Function* 25–55.
- Genty, B., Briantais, J., Baker, N. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta* 990, 87–92.
- Griffing, B. 1956. A generalized treatment of diallel crosses in quantitative inheritance. *Heredity* 10: 31-50.
- Griffing, B. 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian J. Biol. Sci.* 9:463–93.
- Hallauer, A. y Miranda Filho, J. 1988. *Quantitative genetics in maize breeding*. Iowa State University, Ames, Iowa.
- Herold, J. 1980. Regulation of photosynthesis by sink activity- The missing link. *New Phytologist* Volume 86, Issue 2: 131–144.

- Hirel, B., Quilleré, I., Pommel, B., Floriot, M., Andrieu, B., Drouet, J., Chelle, M., Martin, A., Valadier, M., Belastegui-Macadam, X., Fortineau, A., Chartier, M., Fournier, C., Gallais, A., Prioul, J., Lelarge, C., Tercé-Laforgue, T. 2004. Genetic variability for pre- and post-flowering nitrogen metabolism in maize in relation to plant architecture and leaf senescence, 4th International Crop Science Congress, Brisbane, AU in *Terrestrial Plants. C4 Photosynthesis and Related CO₂ Concentrating Mechanisms*: 29–61.
- Laffite, H., Edmeades, G. 1994. Improvement for tolerance to low soil-nitrogen in tropical maize II Grain yield, biomass production, and N accumulation. *Field Crops Research* 39: 15-25.
- Mahajan, V., Dhillon, B., Khehra, A., Singh, O. 1993. Combining ability analysis of response to cold stress in maize. *Field Crops Research* 34: 71-81.
- Makino, A. y Osmond, C. 1991. Effects of nitrogen nutrition on nitrogen partitioning between chloroplast and mitochondria in pea and wheat. *Plant Physiology* 96: 355–362
- Maxwell, K., y Johnson, G. 2002. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal Experimental Botany* 51: 659-668.
- Munaro, E., D'Andrea, K., Otegui, M., Cirilo, A., Eyhéabide, G. 2008. Relaciones padre-progenie en maíz para componentes fisiológicos y numéricos del rendimiento. Efectos del nitrógeno. *Actas XXVII Reunión Argentina de Fisiología Vegetal, PI 061*: 81.
- OCDE-FAO 2013. *Perpectivas agrícolas 2013-2022*. Actualizada 26 de Abril 2016. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep>.
- Ongley, E. 1997. Los fertilizantes, en cuanto contaminantes del agua. En: *Lucha contra la contaminación agrícola de los recursos hídricos. (Estudio FAO riego y Drenaje – 55)*.
- Peretti, M. 2003. *Maíz 2003/2004: Aspectos Económicos del Cultivo*. Reunión Anual de Actualización Técnica de Maíz 2003. EEA INTA Marcos Juárez.
- Pommel, B., Gallais, A., Coque, M., Quillere´c, L., Hirel, B., Prioul B., Andrieu, B., Floriot, M. Carbon and nitrogen allocation and grain filling in three maize hybrids differing in leaf senescence. *European Journal Agronomy* 24 203–211
- Ritchie, S. y Hanway, J. 1982. *How a corn plant develops?* Iowa State University

- Technology Special Report, 48 p.
- Roach, D., y Wulff, R. 1987. Maternal effects in plants. *Annual. Review. Ecology Systematic.* 1987. 18: 209-35.
- Sadras, V., Echarte, L., Andrade, F. 2000. Profiles of Leaf Senescence During Reproductive Growth of Sunflower and Maize. *Annals of Botany* 85: 187-195.
- Sage, R. y Pearcy, R. 1987. The nitrogen use efficiency of C3 and C4 plants. II. Leaf nitrogen effects on the gas exchange characteristics of *Chenopodium album* L. and *Amaranthus retroflexus* L. *Plant Physiology* 84: 959–963
- SAS Institute Inc. 2001. JMP: A Business Unit of SAS. Version 5.0.1 by Statistical Analysis System, Institute Inc. Cary, NC. USA.
- Seco, A., D'Andrea, K., Otegui, M. 2014. Estrategias de senescencia en líneas endocriadas de maíz e híbridos derivados bajo condiciones de nitrógeno contrastante. X Congreso nacional de maíz “Una mirada en alta definición”. Rosario, Sta. Fe.
- Sheen, J. 1994. Feedback-control of genes expression. *Photosynthesis Research* 39: 427-438.
- Shull, G. 1948. What is heterosis? *Genetics* 33: 439-446.
- Sinclair, T. y Horie, T. 1989. Leaf nitrogen, photosynthesis, and crop radiation use efficiency: a review. *Crop Science* 29:90–98
- Strand, K., Westgate, M., Heaton, E., Salas Fernandez, M. 2012. Association Mapping of Carotenoid Candidate Genes with Photosynthesis and Photoprotection in Sorghum. *Plant and Animal Genome Conference, San Diego, California, USA.* Abstract P0372.
- Ta, C. y Weiland, R. 1992. Nitrogen partitioning in maize during development. *Crop Science* 32: 443-451.
- Tamayo, P. Weiss, O., Sanchez-Moreiras A. 2001 Gas Exchange techniques in photosynthesis and respiration infrared gas analyser. In: *Handbook of Plant Ecophysiology Techniques*, 113-139. © 2001 Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.
- Tollenar, M., McCullough, D., Dwyer, L., 1994. Physiological basis of the genetic improvement of corn. In: Slafer, G.A. (Ed.), *Genetic improvement of field crops.* Marcel Dekker New York: 183-236.

- Tollenar, M., Wu, J. 1999. Yield improvement in temperate maize is attributable to greater stress tolerance. *Crop Science*: 39 1597-1604.
- Tollenar, M., Ying, J., Duvick, D. 2000. Genetic gain in corn hybrid. In: Proceedings of the 55th annual research conference on corn and Sorghum, Chicago, IL, December 6-8, 2000. American Seed Trade Association, Washington, DC: 53-62.
- Vancetovic J., Bozinovic, S., Ignjatovic-Micic D., Delic, N., Kravic, N., Nikolic, A. 2015. A diallel cross among drought tolerant maize populations. *Euphytica* 205:1–16.
- Vos, J.A., Van Der Putten, P., Birch, C. 2005. Effect of nitrogen supply on leaf appearance, leaf growth, leaf nitrogen economy and photosynthetic capacity in maize (*Zea mays* L.) *Field Crops Research* 93: 64-73
- Walcroft, A., Whitehead, D., Silvester, W., Band Kelliher, F. 1997. The response of photosynthetic model parameters to temperature and nitrogen concentration in *Pinus radiata* D. Don. *Plant Cell Environment* 20: 1338–1348.