



IMPACTO DE UN ESTRÉS TÉRMICO PRE-FLORACIÓN SOBRE EL PESO Y LA CALIDAD DE LOS GRANOS DE MAÍZ (*ZEA MAYS* L.) ANTE CAMBIOS EN LA RELACIÓN FUENTE-DESTINO POST-FLORACIÓN

Gonzalo M. Rivelli^{(1)*}, Robinson A. Navarrete Sánchez^{(1), (2)} y Gustavo A. Maddonni^{(1), (2)}

⁽¹⁾Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Cátedra de Cerealicultura. Av. San Martín 4453, CABA, Argentina.

⁽²⁾Instituto de investigaciones fisiológicas y ecológicas vinculadas a la agricultura. CONICET.

Av. San Martín 4453, CABA, Argentina. *grivelli@agro.uba.ar

Recibido: 11/05/16

Aceptado: 24/08/16

RESUMEN

Se ha documentado variabilidad genotípica en el impacto del estrés térmico durante etapas reproductivas del maíz sobre el número, peso y calidad de los granos. Sin embargo, se desconoce el efecto del estrés térmico en pre-floración sobre el peso y la calidad cuando hay cambios en la relación fuente-destino post-floración, *i.e.* defoliaciones. El objetivo de este trabajo fue analizar la evolución del peso de los granos de maíz y su calidad para un híbrido tropical (H1) y sus dos líneas parentales (L1 y L2), ante un evento de estrés térmico pre-floración combinado con reducciones de la fuente de asimilados post-floración. Se realizó un experimento bajo condiciones de invernáculo que permitió manipular el régimen térmico (con y sin estrés). El estrés térmico ($>35^{\circ}\text{C}$) se impuso durante 15 días desde inicios de la encañazón hasta 15 días antes de antesis, mientras que el tratamiento de defoliación (reducción $\sim 50\%$ del área verde) se aplicó a los 15 días desde R1 (*i.e.* comienzo del crecimiento del grano). El estrés térmico pre-floración no generó cambios en el peso o la calidad de los granos. Como producto de la defoliación se redujo el peso de los granos, debido a una interrupción anticipada del crecimiento de los mismos, provocando modificaciones sobre su composición química, atribuibles a los cambios en el calibre de los granos. La defoliación redujo la proporción de granos de calibre >8 mm en H1 y aumentó en L1 la proporción de granos de calibre 6,5-8 mm, determinando menores concentraciones de aceite, proteína y almidón. En L2, la concentración de aceite, disminuyó por la defoliación al aumentar los granos de calibre pequeño e intermedio y disminuir los de mayor tamaño.

Palabras clave: maíz (*Zea mays* L.), estrés térmico, defoliación, peso de grano, calidad de grano.

Impact of pre-flowering heat stress on kernel weight and kernel composition of maize (*Zea mays* L.) with different post-flowering source-sink ratios

SUMMARY

Studies have documented genotypic variability in the impact of episodes of heat stress during reproductive stages of maize crops on kernel number, kernel weight and kernel composition. The objective of this study was to analyze the evolution of kernel weight and final kernel composition of a tropical maize hybrid (H1) and its two parent lines (L1 and L2), exposed to combinations of pre-flowering thermal regimes and post-flowering source-sink ratios. A field experiment was conducted under a plastic cover to manipulate thermal regime (with and without heat stress). Heat stress ($> 35^{\circ}\text{C}$) was imposed during 15 days from stem elongation to 15 days before anthesis, while defoliation (reduction $\sim 50\%$ of plant leaf area) was applied 15 days after flowering (*i.e.* the beginning of kernel growth). Pre-flowering heat stress did not modify kernel weight and kernel composition. Defoliation reduced kernel weight due to an early interruption of kernel growth, whereas alterations on chemical composition of kernels were attributable to changes in the caliper of kernels. Reductions of oil, starch and protein kernel concentrations by defoliation were related to the increased proportions of kernels $> 8\text{mm}$ in H1 or $> 6.5\text{-}8\text{mm}$ in L1. In L2 the higher kernel oil concentration of defoliated crops was related to the increased proportions of kernels $< 6.5\text{mm}$ and between 6.5mm and 8mm and the lower proportion of kernels $> 8\text{mm}$.

Key words: Maize, heat stress, defoliation, kernel weight, kernel composition.

Abreviaturas: CHS: carbohidratos solubles en agua; D: defoliación; DAF: duración del área foliar; G: genotipo; ET: estrés térmico; F/D: relación fuente-destino; IAF: índice de área foliar; IC: índice de cosecha; NGP: número de granos por planta; SD: sin defoliación; SET: sin estrés térmico; TCP_{lg} : tasa de crecimiento por planta durante el llenado de granos; TCP_{pc} : tasa de crecimiento por planta durante el período crítico; PG: peso de grano.

1. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es una especie de gran importancia económica a nivel mundial ya sea como alimento para consumo humano, como alimento para el ganado, o como fuente de un gran número de productos industriales. La diversidad de ambientes bajo los cuales es cultivado el maíz es mucho mayor que la de cualquier otro cultivo. Habiéndose originado y evolucionado en la zona tropical, actualmente se cultiva hasta los 58° de latitud norte en Canadá o Rusia y hasta los 40° de latitud sur en Argentina o Chile (Fischer *et al.*, 2014). En esta diversidad de escenarios productivos, la ocurrencia de elevados regímenes térmicos (>35-37 °C) puede generar una limitación para el crecimiento como para el desarrollo de las plantas, provocando daños irreversibles (Wahid *et al.*, 2007).

En condiciones de campo, los cultivos suelen estar expuestos a episodios de estreses abióticos (e.g. sequía, deficiencias nutricionales, temperaturas extremas) durante el ciclo, los cuales afectan su productividad dependiendo de su intensidad, duración y momento de ocurrencia (Loomis y Connor, 1992). El mayor impacto de un estrés térmico tiene lugar cuando sucede alrededor de floración a través de fallas en la fijación de granos asociadas a la inviabilidad de los granos de polen, la alteración en las dinámicas de floración y el aborto de los granos (Barnabás, 2008; Cicchino *et al.*, 2010; Rattalino Edreira *et al.*, 2011). Por otro lado, incrementos de la temperatura durante el llenado efectivo de los granos, reducen su peso y alteran su composición química especialmente cuando tienen lugar durante la primera mitad del llenado efectivo de los granos (Mayer *et al.*, 2014; Rattalino Edreira *et al.*, 2014).

Si bien está claramente documentado que el maíz esta co-limitado por fuente y destino durante el llenado de los granos (Borrás *et al.*, 2004), las limitaciones severas de la fuente durante el llenado efectivo influyen negativamente sobre el crecimiento de los

granos (Borrás *et al.*, 2004), provocando una reducción en el peso final dada por el acortamiento del llenado (Badu-Apraku *et al.*, 1983; Echarte *et al.*, 2006; NeSmith y Ritchie, 1992; Quattar *et al.*, 1987; Westgate, 1994). En esta situación, el crecimiento del grano puede ser parcialmente sostenido por los hidratos de carbono de reserva acumulados previamente en el tallo (Andrade y Ferreiro, 1996; Jones y Simmons, 1983; Uhart y Andrade, 1995; Rattalino Edreira *et al.*, 2014), que se reconocen como uno de los rasgos más importantes que confieren tolerancia a estreses abióticos (Blum, 1998; Slewinski, 2012), incluyendo el estrés por calor (Blum *et al.*, 1994; Tahir y Nakata, 2005; Yang *et al.*, 2002; Bielich, 2014).

Adicionalmente, bajas relaciones fuente-destino (F/D) durante el período de llenado efectivo de los granos de maíz, determinan menores concentraciones de proteína, y mayores concentraciones de almidón y/o aceite según el momento de ocurrencia de la reducción de la fuente (Borrás *et al.*, 2002; Tanaka *et al.*, 2009).

Sin embargo no se conoce el impacto de un estrés térmico en pre-floración sobre el peso de los granos (PG) y su calidad ante defoliaciones post-floración, ya que las reservas de carbohidratos acumulados en el tallo en pre-floración pueden verse afectadas por el estrés térmico (Rattalino Edreira *et al.*, 2014). De esta manera cultivos que hayan experimentado episodios de alta temperatura en pre-floración podrían ser más sensibles en términos de PG y calidad de los granos a reducciones de la fuente en post-floración (*i.e.* menores F/D).

Pocos trabajos han documentado la sensibilidad diferencial de los genotipos de maíz a episodios de temperaturas extremadamente altas. Genotipos tropicales (Fisher y Palmer, 1984) expuestos a altas temperaturas tendrían un mejor rendimiento (es decir, menor penalización del rendimiento) que aquellos de origen templado (Lafitte *et al.*, 1997; Rattalino Edreira y Otegui, 2012), probablemente porque los primeros fueron seleccionados en

regiones con regímenes térmicos elevados (Bolaños y Edmeades, 1996). En un estudio reciente (Cairns *et al.*, 2013), se detectó variabilidad genotípica en términos de rendimiento en la tolerancia a estrés térmico a partir de la cruz de 300 líneas tropicales y subtropicales del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) con una línea tropical control (CML539) de amplia adaptabilidad ambiental. Sin embargo, en el mencionado trabajo no se analizaron las variaciones genotípicas entre líneas e híbridos derivados de los determinantes fisiológicos del rendimiento, ni tampoco cómo estas diferencias se sostienen ante cambios en el régimen térmico.

El objetivo de este trabajo fue analizar los determinantes del PG de maíz y su calidad para un híbrido tropical (la posta sequía C7-F64-2-6-2-2 BBBB x CML539) clasificado como tolerante al estrés térmico y al déficit hídrico (Cairns *et al.*, 2013) y sus dos líneas parentales, ante un evento de estrés térmico pre-floración combinado con reducciones de la fuente de asimilados en post-floración.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Diseño experimental

Se realizó un ensayo bajo condiciones de invernáculo en el campo experimental del Departamento de Producción Vegetal de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (34° 35'S, 58° 29'O) sobre un suelo Argiudol Vértico. La cubierta de polietileno permitió manipular el régimen térmico (dos niveles: con y sin estrés térmico) y dentro de cada régimen térmico se sembraron los genotipos en un diseño completamente aleatorizado, en un arreglo factorial de 3 factores fijos (3 genotipos y 2 niveles de régimen térmico y defoliación) replicados 2 veces ([3x2x2] x 2 repeticiones = 24 parcelas en total) con los 3 factores cruzados. Los genotipos a evaluar (H1: la posta sequía C7-F64-2-6-2-2 BBBB x CML539, L1: la posta sequía C7-F64-2-6-2-2 BBBB y L2: CML539.) fueron provistos por el

Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). Cada unidad experimental (*i.e.* parcela) constó de 4 hileras de cultivo de 5 m de longitud con un espaciamiento entre hileras de 0,5 m y una densidad equivalente de cultivo de 7,2 plantas m⁻².

El experimento se sembró a comienzos de Enero 2014, utilizando entre 2 y 3 semillas por posición para luego de un raleo realizado en el estado de dos hojas completamente expandidas (V2; Ritchie *et al.*, 1993) dejar sólo una planta por sitio. En V6 se fertilizó con urea equivalente a 150 kg N ha⁻¹ aplicada a lo largo de las hileras. Todas las parcelas se mantuvieron bajo riego y libres de malezas, plagas y enfermedades a través de controles químicos y mecánicos.

El tratamiento de elevación de temperatura tuvo una duración de 15 días, comenzando en V9-11 y terminando en V17-19 (ca. 10 días antes de la visualización de las panojas). Para lograr el incremento de temperatura (ET) se cerró completamente una mitad del invernáculo desde las 8:00 hasta las 16:00 horas. La otra mitad se mantuvo abierta durante todo el ensayo (SET), al igual que la mitad con ET durante la etapa previa y posterior a la imposición del tratamiento. Se dispuso de sensores de temperatura ubicados en distintos lugares del experimento para describir los distintos regímenes térmicos. La temperatura umbral de 35°C fue superada en más de 5°C por las temperaturas máximas en 9 días en el ET, mientras que en SET sólo en 3 días no consecutivos se superó en pocos °C (<2°C) este umbral.

Luego de 15 días de ocurrida la floración femenina (*i.e.* conclusión del período crítico) se realizó el tratamiento de reducción de la fuente de foto-asimilados, mediante la remoción de la mitad del total de hojas verdes. Para ello se denominó como hoja 0 a la hoja ubicada inmediatamente por debajo de la espiga y se cortaron las láminas de las hojas impares por encima (+1, +3, +5, etc.) y por debajo (-1, -3, -5, etc.) de esta hoja. Esta defoliación tuvo

como objetivo generar una reducción aproximada del 50% del área foliar de las plantas, evitando generar mayores cambios en el patrón vertical de penetración de luz en el canopeo a fin de no modificar mayormente la actividad fotosintética de las hojas remanentes.

2.2. Mediciones

2.2.1. Fenología y estimación de biomasa

En cada parcela se seleccionó un sitio con 10 plantas consecutivas del mismo estadio ontogénico (V3) y crecimiento inicial similar. Sobre cada planta marcada, se registró semanalmente el número de hojas completamente expandidas, y se realizaron mediciones alométricas (diámetro del tallo en la base de las plantas y altura hasta la inserción de la última hoja expandida y diámetro máximo de la espiga cuando estuvo presente) para estimar en forma no destructiva la biomasa de las plantas durante el período en estudio. Dicha metodología ha sido ampliamente utilizada en híbridos (Vega *et al.*, 2001) y líneas de maíz (D'Andrea *et al.*, 2009) expuestos a diferentes condiciones de crecimiento, incluso bajo diferentes regímenes térmicos (Cicchino *et al.*, 2010; Mayer *et al.*, 2014; Rattalino Edreira Otegui, 2012).

Para cada planta marcada, se estimó la tasa de crecimiento durante el período crítico (TCP_{PC} ; ± 15 días de R1) que afectada por el número de granos por planta (NGP) a cosecha, permitió estimar la relación F/D alrededor de floración (Gambín *et al.*, 2006).

2.2.2. Índice de área foliar (IAF) y duración del área foliar (DAF)

Para cada planta marcada se estimó el área por hoja a partir del producto entre la máxima longitud de la lámina, su ancho máximo y un factor de corrección (0,75) obtenido por Montgomery (1911). El área foliar por planta se estimó a partir de la sumatoria del área de las hojas verdes en cada momento de observación. Se determinó la permanencia del

área foliar verde hasta R6 con una frecuencia semanal, siguiendo visualmente la senescencia (clorosis mayor al 50% del área) de cada una de las hojas. El IAF se calculó mediante el producto entre el área foliar por planta promedio de cada parcela y la densidad de plantas. La DAF se estimó como la integral de la evolución del IAF desde R2 a R6.

2.2.3. Evolución del PG y su dinámica

Para cuantificar la evolución del crecimiento de los granos, desde ca. R1+10d hasta R6, se extrajeron semanalmente 20 granos del tercio medio de la espiga apical de 2 plantas por sub-parcela. Los granos se secaron en estufa de aire forzado a 70 °C durante al menos 96 h para luego cuantificar el PG y caracterizar la dinámica del llenado.

La tasa de llenado efectivo y la duración de dicho período se estimó mediante el ajuste de la respuesta del PG al tiempo desde R1, por medio de un modelo bilineal con punto de quiebre (Ecs. [1-2]).

$$PG = a + b \text{ DDR}_1, \text{ para } \text{DDR}_1 \leq c \quad [1]$$

$$PG = a + b c, \text{ para } \text{DDR}_1 > c \quad [2]$$

donde DDR1 son los días desde R1, a es la ordenada al origen, b es la tasa de crecimiento de los granos durante el período de llenado efectivo de los granos (en $\text{mg grano}^{-1} \text{ d}^{-1}$) y c es el punto de quiebre que señala la finalización del período de llenado efectivo de los granos (en días). La duración de la fase lag (en días) se estimó a través de la abscisa al origen (*i.e.*, a / b). Se calculó la duración del período de llenado efectivo (en días) como la diferencia entre la duración total del llenado de los granos y la duración de la fase lag (*i.e.*, $c - [a/b]$).

2.2.4. Contenido de carbohidratos solubles en el tallo (CHS)

El contenido de CHS se midió semanalmente a partir de R1+15d hasta R6. Cada muestreo se realizó sobre dos plantas por sub-parcela tomando el fitómero superior e

inferior al nudo de la espiga apical como representativos del contenido de reserva en la planta (J.I., Rattalino Edreira, comunicación personal). Las muestras se secaron en estufa de aire forzado a 70 °C durante al menos 96 hs y luego fueron acondicionadas para la posterior determinación de CHS siguiendo el método del reactivo Anthrona (Dreywood, 1946; Yemm y Willis, 1954).

2.2.5. Peso y composición química de los granos

En R6 se muestrearon las plantas marcadas y una vez procesadas se secaron en estufa a 70 °C durante al menos 96 hs. Posteriormente se trillaron las espigas de cada planta para contabilizar el NGP y el PG como cociente entre el peso de los granos de cada espiga y su NGP. Luego se analizaron los granos para determinar su composición química (concentración de aceite, proteína y almidón) mediante la técnica de transmitancia del infrarrojo cercano (Infratec 1227, Tecator, Suecia).

Se determinó el calibre de los granos mediante la utilización de una máquina tamizadora (Zony Test, Rey y Ronzoni, Bs. As., Argentina). Para ello, se sometió la totalidad de los granos de cada parcela a vibración durante 1 minuto para que logren atravesar dos tamices metálicos de orificios circulares, con diámetros de 8 y 6,5 mm, respectivamente. De esta manera, quedaron establecidos tres calibres de grano (mayores a 8 mm, entre 6,5 a 8 mm y menores a 6,5 mm) según el tamiz que lo haya retenido. Una vez registrado el peso seco de cada fracción, se evaluó la composición química para cada calibre de grano mediante la técnica mencionada anteriormente. Cada una de estas fracciones se expresó como proporción relativa al peso total de los granos de cada parcela.

2.3. Análisis estadísticos

El ajuste de los modelos alométricos se realizó con la técnica de optimización (Jandel TBLCURVE, 1992). Se analizó la diferencia

entre los tratamientos para los rasgos en estudio mediante ANOVA utilizando el programa estadístico Infostat Profesional v.1.1 (Di Rienzo *et al.*, 2011). Para cuantificar la fuente de foto-asimilados alrededor de floración, se consideró la variable TCP_{pc} y para la fuente durante el llenado de granos se utilizó la DAF. A su vez, como indicador del tamaño de los destinos se utilizó el NGP.

El efecto de cada tratamiento sobre el calibre de los granos, así como la interacción de los mismos, se analizó por medio de un modelo ANOVA de 4 factores (Genotipo x Régimen térmico x Defoliación x Calibre). Para cada genotipo se correlacionó la composición química de los granos con la proporción que representa cada calibre en cada tratamiento a través de un modelo lineal ajustado al conjunto de datos.

3. RESULTADOS

3.1. Evolución del PG y su dinámica

La duración de la fase *lag* no fue afectada por los tratamientos, registrándose una duración promedio de 14,5 días (Cuadro 1). En cuanto a la dinámica del llenado efectivo, para todos los genotipos los tratamientos de defoliación acortaron el llenado ($P<0,01$) y no afectaron la tasa, explicando los cambios en la duración las variaciones del PG ($P<0,01$). Por otra parte, el ET pre-floración no afectó el PG (Cuadro 1).

Entre los genotipos no se observaron diferencias en la duración del llenado efectivo (ca. 48,5 días promedio). En contraste, la tasa de llenado y el PG final evidenciaron diferencias entre la línea L1 y H1 ($P<0,1$; $P<0,01$), presentando L1 la menor tasa de llenado y el menor PG (Cuadro 1).

Para cada nivel de defoliación, las variaciones en la DAF/NGP se relacionaron linealmente con la TCP_{pc}/NGP (Figura 1). Para similares valores de TCP_{pc}/NGP , las plantas defoliadas presentaron menores valores de

Cuadro 1: Dinámica del crecimiento de los granos y peso final del grano (PG) en dos líneas de maíz (L1 y L2) y su híbrido derivado (H1), según el régimen térmico (ET: estrés térmico; SET: sin estrés térmico) y tratamiento de defoliación (D: defoliado; SD: sin defoliar). Se incluye los niveles de significancia de los efectos principales según el ANOVA.

Tratamiento	Duración de llenado de granos en (día)		Tasa llenado efectivo (mg grano ⁻¹ d ⁻¹)	PG (mg grano ⁻¹)
	Fase lag	Llenado efectivo		
D	14,41 A	45,09 B	6,07 A	270,87 B
SD	14,63 A	51,84 A	6,01 A	309,54 A
<i>P</i>	ns	**	ns	**
ET	14,86 A	47,07 A	6,14 A	285,71 A
SET	14,19 A	49,86 A	5,94 A	294,7 A
<i>P</i>	ns	ns	ns	ns
H1	15,58 A	46,74 A	6,55 A	299,73 A
L1	14,72 A	48,52 A	5,60 B	271,06 B
L2	13,27 A	50,13 A	5,97 AB	299,82 A
<i>P</i>	ns	ns	**	+

Medias con letras distintas indican diferencias significativas
ns: no significativo; + P<0,1 ; * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001

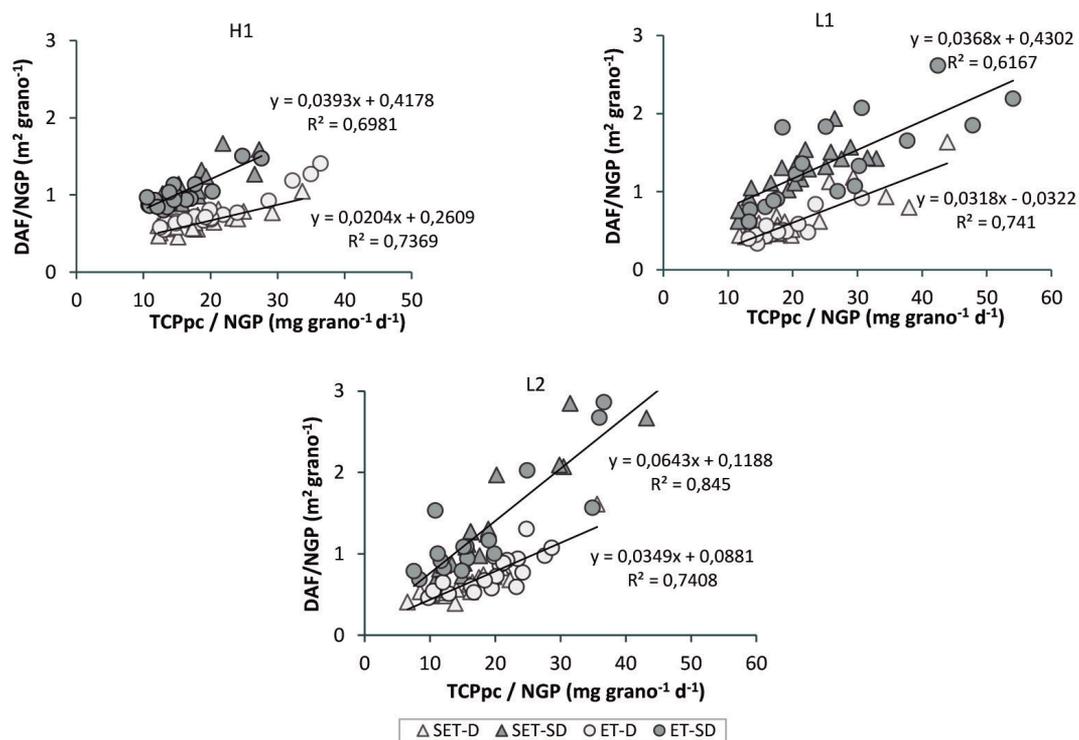


Figura 1: Relación entre la duración del área foliar por grano durante el llenado y la tasa de crecimiento de la planta por grano en el período crítico en dos líneas de maíz (L1 y L2) y su híbrido derivado (H1) según el régimen térmico (ET: estrés térmico; SET: sin estrés térmico) y tratamiento de defoliación (D: defoliado; SD: sin defoliar).

DAF/NGP que aquellas sin defoliar. Esta reducción resultó mayor en aquellas plantas con altas TCP_{pc}/NGP (i.e. situaciones de alto PG potencial).

3.2. Relación entre el PG y la F/D post-floración

Para analizar la variabilidad del PG de las plantas entre y dentro de cada tratamiento, se relacionó el PG con la DAF/NGP (Figura 2). Para H1 se observó una única relación lineal entre ambas variables para ambas condiciones de defoliación, mientras que esta tendencia resultó asintótica para las líneas, evidenciando

el PG una saturación en la respuesta (i.e. plateau) para valores de DAF/NGP > 1,18 y 1,12 m² grano⁻¹ para L1 y L2; respectivamente.

3.3. Evolución de los CHS

Al inicio del llenado efectivo de los granos (i.e. previo a la defoliación), el contenido de CHS de H1, L1 y L2 fue ca. 25,6%, 20,1% y 22,6%; respectivamente (Figura 3). Durante el comienzo del llenado efectivo se registró un incremento de los CHS en los tratamientos no defoliados, presentando L1 el mayor incremento (ca. + 66%). A partir de los 40 días de R1, los tratamientos sin defoliar de H1 y L1

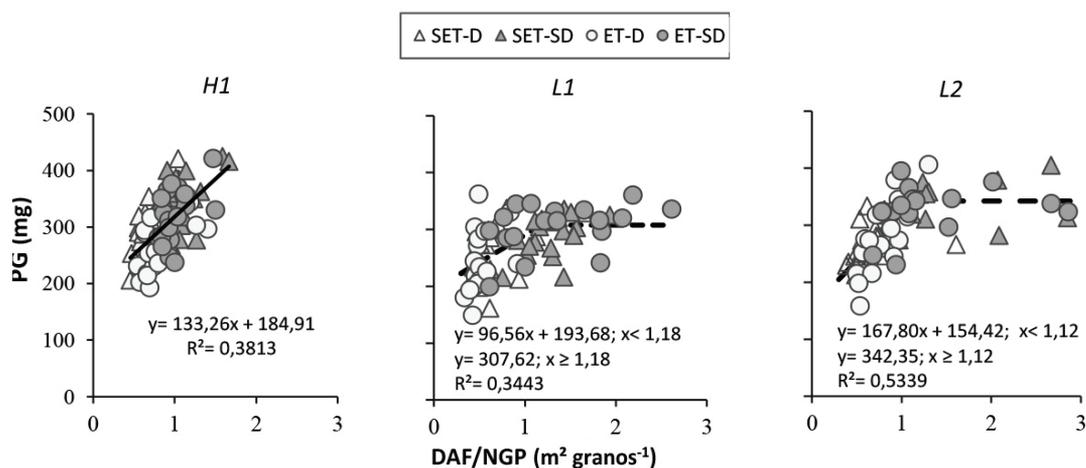


Figura 2: Peso de grano de las plantas de cada tratamiento en relación con la DAF/NGP en dos líneas de maíz (L1 y L2) y su híbrido derivado (H1) según el régimen térmico (ET: estrés térmico; SET: sin estrés térmico) y tratamiento de defoliación (D: defoliado; SD: sin defoliar).

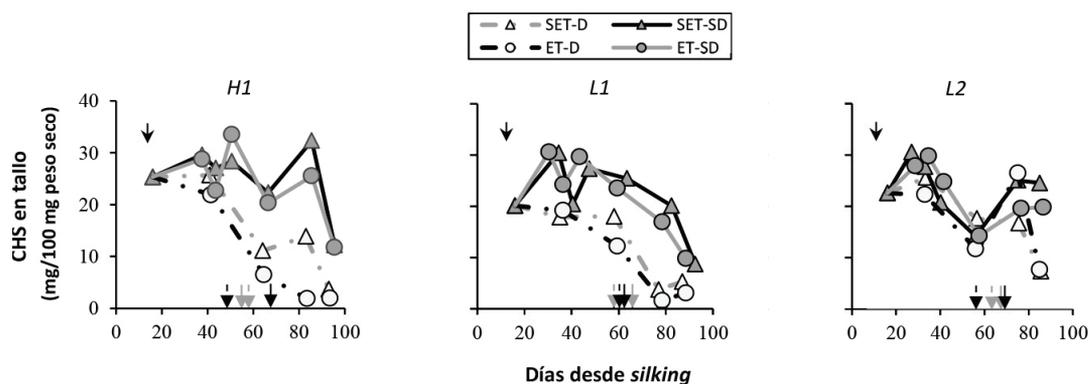


Figura 3: Evolución de los carbohidratos solubles (CHS) del tallo en dos líneas de maíz (L1 y L2) y su híbrido derivado (H1) según el régimen térmico (ET: estrés térmico; SET: sin estrés térmico) y tratamiento de defoliación (D: defoliado; SD: sin defoliar). Las flechas sobre el eje x indican el día de ocurrencia de madurez fisiológica de cada tratamiento y la flecha inicial superior, el momento de la defoliación.

presentaron una menor reducción en el contenido de CHS que los tratamientos defoliados. La L2 presentó una dinámica de CHS similar entre tratamientos. Estas tendencias resultaron similares entre ET y SET.

3.4. Calidad final de los granos

La composición química de los granos se vio alterada por los efectos de la limitación de fuente durante el llenado. La defoliación provocó disminuciones significativas ($P<0,001$) en la concentración de los tres principales compuestos (ca. -15%, -12% y -7% para aceite, proteína y almidón; respectivamente). Estos cambios en la composición química, pueden estar relacionados con los efectos de los tratamientos sobre el tamaño de los granos (calibre). Las proporciones de cada calibre fueron alteradas principalmente por el efecto de la reducción de la fuente ($P<0,001$), incrementando la cantidad de granos pequeños (ca. 200%) e intermedios (ca. 133%) y reduciendo ligeramente (ca. -16%) los de mayor tamaño. El estrés térmico sólo elevó (ca. 22%) significativamente ($P<0,1$) la proporción de granos intermedios. Las líneas presentaron con respecto al híbrido una mayor ($P<0,001$) proporción de granos de calibre intermedio

(0,11 y 0,25 para el híbrido y las líneas respectivamente) y una menor ($P<0,01$) proporción del calibre mayor (0,87 y 0,75 para el híbrido y las líneas respectivamente).

La calidad de los granos difirió ($P<0,001$) entre calibres (Cuadro 2). Las mayores concentraciones de aceite y proteína correspondieron a los granos de menor calibre, las menores a los granos de calibre intermedio y las intermedias a los granos de mayor calibre. En relación al almidón, los granos de calibre intermedio presentaron las mayores concentraciones y los granos de mayor calibre, las menores concentraciones.

Como consecuencia de la fuerte interacción genotipo x defoliación x calibre sobre todos los compuestos del grano (Cuadro 2), se relacionó la concentración de cada compuesto (aceite, proteína y almidón) de cada tratamiento, con la proporción porcentual de cada calibre en la muestra conjunta de granos de los distintos tratamientos. En H1 las mayores correlaciones correspondieron a los granos de mayor calibre ($r=0,76$; $P<0,01$ para aceite, $r=0,82$; $P<0,001$ para proteína, $r=0,78$; $P<0,001$ para almidón). Las defoliaciones redujeron la proporción de granos de calibre

Cuadro 2: Composición (%) del grano de maíz según el contenido de aceite, proteína y almidón para diferentes calibres de grano (C) en tres genotipos (G) de maíz en dos regímenes térmicos (ET) y dos niveles de defoliación (D). Debajo del Cuadro se incluyen los efectos combinados que resultaron significativos.

Calibre del grano (mm)	Composición del grano (%)		
	Aceite	Proteína	Almidón
<6,5	6,68 A	11,83 A	66,97 B
6,5-8	5,41 C	10,49 C	67,44 A
>8	5,68 B	10,70 B	66,27 C
	***	***	***
G x D	***	***	***
G x C	***	**	+
ET x D	*	ns	*
ET x C	**	+	ns
D x C	***	***	***
G x D x C	***	**	***
G x ET x D x C	**	ns	ns

Medias con letras distintas indican diferencias significativas

ns: no significativo; + $P<0,1$; * $P<0,05$; ** $P<0,01$; *** $P<0,001$

>8 mm determinando menores concentraciones de aceite, proteína y almidón. En L1, las mayores correlaciones correspondieron a los granos de calibre medio ($r=-0,96$ para aceite; $P<0,001$, $r=-0,96$; $P<0,001$ para proteína, $r=-0,94$; $P<0,001$ para almidón). Las defoliaciones aumentaron la proporción de granos de calibre 6,5-8 mm determinando menores concentraciones de aceite, proteína y almidón. Finalmente, en L2 sólo las correlaciones resultaron significativas para la concentración de aceite, la cual disminuyó por la defoliación al aumentar los granos de calibre pequeño e intermedio y disminuir los de mayor calibre ($r=0,75$; $P<0,01$ para <6,5 mm, $r=-0,76$; $P<0,01$ para 6,5-8 mm, $r=0,77$; $P<0,001$ para >8mm).

4. DISCUSIÓN

El efecto de la defoliación en post-floración provocó caídas del PG (-17%) determinadas por un acortamiento en la duración del llenado efectivo sin afectar la tasa de llenado. Por el contrario, el ET pre-floración no afectó ni la dinámica del llenado ni el PG para ambos niveles de defoliación, debido a la similar TCP_{PC}/NGP (Gambín *et al.*, 2006) de cada genotipo bajo los diferentes regímenes térmicos pre-floración. Por otro lado, la asociación lineal y positiva entre la DAF/NGP y la TCP_{PC}/NGP (Figura 1) puso de manifiesto un fuerte "efecto retrocontrol" a nivel de planta individual de la F/D alrededor de floración con aquella establecida durante el período post-floración. Esta relación robusta resulta novedosa y no fue quebrada por las defoliaciones post-floración, posiblemente debido al elevado contenido de CHS al inicio del llenado de los granos.

El ET pre-floración no modificó el contenido de CHS almacenados en floración. La interrupción del llenado de los granos provocada por la defoliación, parecería estar asociada al mayor ritmo de consumo de los CHS. Estos resultados concuerdan con los reportados por otros autores que han trabajado con defoliaciones en post-floración (Jones y Simmons,

1983; Echarte *et al.*, 2006; Sala *et al.*, 2007) y con otros estreses abióticos como el estrés hídrico (NeSmith y Ritchie, 1992), el sombreado (Tanaka y Maddonni, 2009), las deficiencias nutricionales (Melchiori y Caviglia, 2008; Mayer *et al.*, 2012) y el ET (Rattalino *et al.*, 2014).

De forma similar a lo observado con el PG, la limitación de fuente post-floración alteró la composición química promedio de los granos, provocando disminuciones en la concentración de aceite, proteína y almidón (ca. -15%, -12% y -7%, respectivamente), siendo nulo el efecto generado por el ET pre-floración.

Las caídas en la concentración de aceite, asociadas al acortamiento de la fase final del llenado, sugieren un efecto negativo de la defoliación sobre la concentración de aceite del embrión, ya que la relación embrión-grano es afectada cuando el crecimiento del grano se interrumpe solo a inicios del llenado (Tanaka y Maddonni, 2009; Mayer y Maddonni, 2014). La concentración de proteína se vio afectada por los cambios de la F/D post-floración, reduciéndose (ca. -12%) en respuesta a la disminución de la fuente (Jones y Simmons, 1983; Uhart y Andrade, 1995; Borrás *et al.*, 2002). Por el contrario, la ligera disminución de la concentración de almidón (ca. -7%) ante reducciones de la F/D post-floración no guardó el patrón de respuesta esperado, *i.e.* incrementos del % de almidón ante reducciones de la F/D post-floración (Borrás *et al.*, 2002). Sin embargo, el rango ligero de variación de esta concentración se encuentra dentro de lo esperable ante variaciones de la F/D (Mayer *et al.*, 2016).

Las relaciones anteriormente descritas entre los componentes químicos de los granos y la F/D en post-floración describen al "grano medio", pero no documentan el impacto de un estrés sobre la des-uniformidad en el calibre de los granos y su calidad. Nuevamente, el ET en pre-floración no tuvo impacto sobre la distribución del calibre de los granos y las defoliaciones post-floración generaron fuertes cambios en este rasgo, tal como fue registrado

ante diversas alteraciones de la fuente (Masagué, 2004; Cirilo *et al.*, 2011). Para los tres genotipos, si bien la defoliación incrementó la proporción de granos chicos (<6,5mm) y disminuyó la proporción de granos grandes (>8mm), estas proporciones no se alejaron de las especificaciones de calidad comercial para la industria: *i.e.* $\geq 0,5$ para calibre >8mm y menor a 0,03 para calibre <6,5 mm (Serignese y Pescio, 1995).

Los granos de diferente calibre presentaron cambios en su composición química, principalmente en aceite y proteína: las mayores concentraciones de estos compuestos correspondieron a los granos de menor calibre y las menores a los granos de calibre intermedio. Estos resultados estarían vinculados a la interrupción del crecimiento de los granos en distintos momentos del llenado según su posición en la espiga; los granos de la porción apical presentan una dinámica de llenado más lenta que aquellos de la parte basal (Tollenaar y Daynard, 1978). Así, ante una defoliación los granos apicales posiblemente representen a los granos de menor calibre, con interrupciones más tempranas del llenado que determinan mayores concentraciones de aceite y proteína (Tanaka y Maddonni, 2009; Mayer *et al.*, 2016). Comparando la representatividad de cada calibre en la muestra y la

concentración de cada compuesto en la misma, los cambios en las concentraciones se vincularon con los efectos de la defoliación sobre el gradeo de los granos. Las fracciones de mayor impacto para H1 fueron los granos de mayor calibre y para L1 los granos de calibre medio. En L2 sólo la concentración de aceite se relacionó con los cambios en las proporciones de los tres calibres. Estos resultados sugieren la posible clasificación de los granos para lograr productos de distinta composición química según el destino industrial de la producción.

5. CONCLUSIONES

El efecto del ET en pre-floración no afectó el PG ni su calidad en cultivos con y sin reducciones de la fuente en post-floración. Por el contrario, la reducción de fuente durante el llenado efectivo impactó negativamente sobre el PG a través de un acortamiento del llenado, resultado de un mayor consumo de CHS. La calidad de los granos se vio alterada, disminuyendo el porcentaje de aceite, proteína y almidón ante menores F/D post-floración. La interrupción del llenado de los granos, incrementó la proporción de granos de menor calibre en detrimento de los de mayor tamaño, alterando la calidad final de los granos.

BIBLIOGRAFÍA

- Andrade, F.H., Ferreiro M.A. 1996. Reproductive growth of maize, sunflower and soybean at different source levels during grain filling. *Field Crops Res.* 48:155–165.
- Badu-Apraku B., Hunter R.B., Tollenaar M. 1983. Effect of temperature during grain filling on whole plant and grain yield in maize (*Zea mays* L.). *Can. J. Plant Sci.* 63:357–363.
- Barnabás, B., Jäger, K., Fehér, A. 2008. The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant, Cell & Environment*, 31(1), 11–38.
- Bielich, M. 2014. Efectos de un episodio de estrés térmico durante el llenado de los granos de maíz (*Zea mays*, L.). Tesis de Grado. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. Argentina.
- Blum, A. 1998. Improving wheat grain filling under stress by stem reserve mobilisation. *Euphytica* 100, 77–83.
- Blum, A., Sinmena, B., Mayer, J., Golan, G., Shpiler, L. 1994. Stem reserve mobilisation supports wheat-grain filling under heat stress. *Funct. Plant Biol.* 21, 771-781.
- Bolaños, J., Edmeades, G.O. 1996. The importance of the anthesis-silking interval in breeding for drought tolerance in maize. *Field Crops Res.* 48,65-80.
- Borrás, L., Otegui, M.E. 2001. Maize kernel weight response to postflowering source–sink ratio. *Crop Sci.* 49, 1816-1822.

- Borrás, L., Curá, A.J., Otegui, M.E. 2002. Maize Kernel Composition and Post-Flowering Source-Sink Ratio. *Crop Science* 42, 781-790.
- Borrás, L., Slafer, G.A., Otegui, M.E. 2004. Seed dry weight response to source-sink manipulations in wheat, maize and soybean. A quantitative reappraisal. *Field Crops Res.* 83:131-146.
- Cairns, J.E., Crossa, J., Zaidi, P.H., Grudloyma, P., Sanchez, C., Araus, J.L., Thaitad, S., Makumbi, D., Magorokosho, C., Bänziger, M., Menkir, A., Hearne, S., Atlin, G.N. 2013. Identification of drought, heat, and combined drought and heat tolerant donors in maize. *Crop Sci.* 53, 1335-1346.
- Cicchino, M., Edreira, J. I. R., Otegui, M. E. 2010. Heat Stress during Late Vegetative Growth of Maize: Effects on Phenology and Assessment of Optimum Temperature. *Crop Science*, 50(4), 1431.
- Cirilo A.G., Actis M., Andrade F.H., Valentinuz O.R. 2011. Crop management affects dry-milling quality of flint maize kernels. *Field Crops Research* 122:140-150.
- D'Andrea K., Otegui M., Cirilo A., Eyhérabide G. 2009. Ecophysiological traits in maize hybrids and their parental inbred lines: Phenotyping of responses to contrasting nitrogen supply levels. *Field Crops Res.* 114:147-158
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Cuadroda, M., Robledo, C.W. 2011. InfoStat Profesional. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
- Dreywood, R. 1946. Qualitative Test for Carbohydrate Material. *Ind. & Eng. Chem. Analyt.* 18, 499-499.
- Echarte, L., Andrade, F.H., Sadras, V.O., Abbate, P.E. 2006. Kernel weight and its response to source manipulations during grain filling in Argentinean maize hybrids released in different decades. *Field Crops Res.* 96:307-312.
- Fischer, T., Byerlee, D., Edmeades, G. 2014. Crop yields and global food security; Will yield increase continue to feed the world? *Ed. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR)*, 5, 183- 240.
- Gambín, B.L., Borrás, L., Otegui, M.E. 2006. Source-sink relations and kernel weight differences in maize temperate hybrids. *Field Crops Res.* 95, 316-326.
- Jandel TBLCURVE. 1992. Curve Fitting Software Jandel Scientific, Corte Madera, CA.
- Jones, R.J., Simmons S.R. 1983. Effect of altered source sink ratio on growth of maize kernels. *Crop Sci.* 23:129-134.
- Lafitte H.R., Edmeades G.O., Johnson E.C. 1997. Temperature responses of tropical maize cultivars selected for broad adaptation. *Field Crops Res* 49, 215-229.
- Loomis, R.S., Connor, D.J. 1992. Crop ecology: productivity and management in agricultural systems. Cambridge University Press 538 p.
- Masagué A., Cirilo A., Andrade F. 2004. La dureza de grano de maíz (*Zea mays* L.) colorado duro está asociada con la relación fuente-destino postfloración. *Actas XXV Reunión Argentina de Fisiología Vegetal*. Santa Rosa (La Pampa), 22-24/Septiembre de 2004: 82-83
- Mayer, L.I., Rossini, M.A., Maddonni, G.A. 2012. Inter-plant variation of grain yield components and kernel composition of maize crops grown under contrasting nitrogen supply. *Field Crops Res.* 125: 98-108.
- Mayer, L.I., Rattalino Edreida, J.I., Maddonni, G. A. 2014. Oil yield components of maize crops exposed to heat stress during early and late grain-filling stages. *Crop Science* 54, 1-15.
- Mayer, L. I., Savín, R., Maddonni, G.A. 2016. Heat Stress during Grain Filling Modified Kernel Protein Composition in Field-Grown Maize. *Crop Sci.* (in press).
- Melchiori, R. J., Caviglia O. P. 2008. Maize kernel growth and kernel water relations as affected by nitrogen supply. *Field Crops Res.* 108:198-205.
- NeSmith, D.S., Ritchie J.T. 1992. Maize (*Zea mays* L.) response to a severe soil water-deficit during grain-filling. *Field Crops Res.* 29:23-35.
- Quattar, S., Jones R.J., Crookston R.K. 1987. Effect of water deficit during grain filling on the pattern of maize kernel growth and development. *Crop Sci.* 27:726-730.
- Rattalino Edreira, J.I., Budakli Carpici, E., Sammarro, D., Otegui, M.E. 2011. Heat stress effects around flowering on kernel set of temperate and tropical maize hybrids. *Field Crops Res.* 123, 62-73.

- Rattalino Edreira, J.I., Otegui, M.E. 2012. Heat stress in temperate and tropical maize hybrids: differences in crop growth, biomass partitioning and reserves use. *Field Crops Res.* 130, 87–98.
- Rattalino Edreira, J. I., Mayer, L. I., Otegui, M. E. 2014. Heat stress in temperate and tropical maize hybrids: Kernel growth, water relations and assimilate availability for grain filling. *Field Crops Research* 166, 162-172.
- Ritchie, S.W., Hanway, J.J., Benson, G.O. 1993. How a corn plant develops. *Special Report* 48. Iowa State University.
- Sala, G. R., Westgate M. E., Andrade F. H. 2007. Source/Sink ratio and the relationship between maximum water content, maximum volume and final dry weight of maize kernel. *Fields Crops Res.* 101:19-25.
- Serignese, A.D., Pescio, F.E. 1995 Maíz duro colorado: una alternativa interesante. SAGyP (Arg.). Serie Divulgación n°1 35p.
- Slewinski, T.L. 2012. Non-structural carbohydrate partitioning in grass stems: a target to increase yield stability, stress tolerance, and biofuel production. *J. Exp. Bot.* 63, 4647–4670.
- Tahir, I.S.A., Nakata, N. 2005. Remobilization of nitrogen and carbohydrate from stems of bread wheat in response to heat stress during grain filling. *J. Agron. Crop Sci.* 191, 106–115.
- Tanaka, W., Maddonni, G.A. 2009. Maize kernel oil and episodes of shading during the grain-filling period. *Crop Sci.* 49, 2187–2197.
- Tanaka, W., Mantese, A., Maddonni, G. A. 2009. Pollen source effects on growth of kernel structures and embryo chemical compounds in Maize. *Ann. of Bot.* 104, 325-334.
- Tollenaar, M., Daynard, T.B. 1978. Relationship between assimilate source and reproductive sink in maize grown in a short-season environment. *Agron. J.* 70, 219-223.
- Uhart, S.A., Andrade, F.H. 1995. Nitrogen and carbon accumulation and remobilization during grain filling in maize under different source/sink ratios. *Crop Sci.* 35, 183-190.
- Vega, C.R.C., Andrade, F.H., Sadras, V.O., Uhart, S.A., Valentinuz, O.R. 2001. Seed number as a function of growth. A comparative study in soybean, sunflower, and maize. *Crop Sci* 41:748-754.
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., Foolad, M.R., Khair, A. 2007. Heat tolerance in plants: An overview. *Environ. Exp. Bot.* 61, 199-223.
- Westgate, M.E. 1994. Water status and development of the maize endosperm and embryo during drought. *Crop Sci.* 34:76–83.
- Yemm, E.W., Willis, A.J. 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochem. J.* 57, 508-514.