



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

Producción de semilla híbrida de maíz *Zea mays*, L. con cuatro líneas con androesterilidad citoplasmática: su comportamiento y manejo.

SEBASTIÁN GABRIEL COLOMÉ

TRABAJO FINAL PARA OPTAR AL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN PRODUCCIÓN DE SEMILLAS DE
CEREALES, OLEAGINOSAS Y FORRAJERAS

DIRECTOR: Dra Raquel Benavidez (UNR)

CO- DIRECTOR: Ing. Agr (MSc) Martín Vazquez (Syngenta Agro S.A)

AÑO 2022

Producción de semilla híbrida de maíz *Zea mays*, L.

con cuatro líneas con androesterilidad citoplasmática: su comportamiento y manejo

Sebastián Gabriel Colomé

Ingeniero Agrónomo – Universidad Nacional de Rosario

Este Trabajo Final es presentado como parte de los requisitos para optar al grado académico de Especialista en PRODUCCIÓN DE SEMILLAS DE CEREALES, OLEAGINOSAS Y FORRAJERAS de la Universidad Nacional de Rosario y no ha sido previamente presentada para la obtención de otro título en ésta u otra Universidad. El mismo contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en cinco localidades, durante el período comprendido entre Septiembre 2019 – Mayo 2020, y con la dirección de la Dra. Raquel Benavidez.

Nombre y firma del autor

Nombre y firma del Director

Nombre y firma del Co - Director

Defendida:de 20__.

INDICE

| | |
|-------------------------------------|-----------|
| AGRADECIMIENTOS | 1 |
| RESUMEN | 2 |
| ABSTRACT | 4 |
| INTRODUCCIÓN | 6 |
| OBJETIVOS | 11 |
| MATERIALES Y MÉTODOS | 12 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 16 |
| CONCLUSIONES | 39 |
| BIBLIOGRAFIA..... | 41 |
| ANEXOS..... | 44 |

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero expresar mi agradecimiento a la Empresa Syngenta Agro S.A, por brindarme cada uno de los recursos necesarios para llevar adelante los ensayos en tiempo y forma, pudiendo coleccionar toda la información necesaria y poniendo a disposición las herramientas para la obtención de los resultados.

Asimismo, agradezco el apoyo que me brindó la Dra. Raquel Benavidez, mi directora, que desde un primer momento puso a disposición su tiempo y dedicación para guiarme en cada una de las etapas del trabajo final.

Mi agradecimiento también, para el Ing. Martín Vazquez (Syngenta Agro S.A) que además de ocupar el rol de co-director, guiándome en la búsqueda de buenos resultados, fue una de las personas que me permitió contar con cada uno de los recursos y herramientas para llevar adelante mi trabajo de investigación.

Considero que un trabajo de investigación es fruto de un enorme trabajo en equipo, donde hay personas que colaboran desde lo académico y operacional; y por otro lado los que lo hacen desde la comprensión y paciencia, como lo es la familia, que incansablemente estuvieron desde el primer momento para poder cumplir con este objetivo.

Sin el apoyo de **TODOS** estos integrantes de "equipo" hubiera sido muy difícil estar presentando este trabajo.

A todos ellos, muchas gracias...

RESUMEN

Se evaluó la expresión de la androesterilidad citoplasmática y del rendimiento en cuatro líneas endocriadas progenitoras de híbridos del portfolio de la compañía, G1, G2, G3 y G4, en seis zonas de producción -ZProd- (Sudeste y Sudoeste de la provincia de Buenos Aires, SEBA SOBA respectivamente; San Luis, Córdoba Norte, Núcleo y Valle de Uco) y en fechas de siembra -FS- entre octubre y diciembre de 2019. Las líneas se sembraron en un diseño de bloques completos aleatorizados, con tres repeticiones. Se registraron los porcentajes de reversión de androesterilidad -%Rup- respecto de la fecha de 50% de estigmas -50%Est- visibles para cada material y el Rendimiento se expresó en -Bolsas ha⁻¹. El G 1 mostró interacciones entre las FS y las ZProd ($F= 36,78$ y $F=5,52$; $p<0,001$). La restauración o %Rup osciló entre el 1,5 y 45% y rindió en promedio 152 Bolsas ha⁻¹. Se propuso un manejo convencional de despanojado ya que se mantuvo la androesterilidad en todas las ZProd, excepto en SOBA y San Luis. El G2 revirtió la androesterilidad y mostró entre el 50 al 90% Rup en todas las ZProd, y en todas las épocas de siembra. Tuvo el mayor rendimiento promedio en Bolsas ha⁻¹ en todas las fechas de siembra. Para G1 y G2 el momento de la remoción de panojas sería distinto: si la restauración fuese antes del 50% Est el despanojado se deberá hacer antes esa fecha pues se pondría en riesgo la pureza genética de la semilla híbrida y habría mayor potencial de disminución del área foliar. Si la restauración fuese coincidente o posterior a la fecha del 50%Est, la panoja estará más exerta; la eficiencia de extracción sería mayor, con menor disminución del área foliar. En ambas situaciones se repararán posteriormente los lotes. Para el G3 también se detectaron interacciones significativas para los %Rup y 50%Est entre las FS y las ZProd ($F= 7,78$ y $F=11,55$; $p< 0,0001$). En San Luis y SOBA no se detectó reversión en ninguna de las FS; en Córdoba Norte y Valle de Uco la restauración máxima fue del 2%, en SEBA y Núcleo hubo máximos entre el 13 y 4 % de panojas emitiendo polen, respectivamente. El rendimiento promedio osciló entre 130 y 155 Bolsas ha⁻¹. El G4 en las distintas FS mostró interacción significativa con las ZProd para %Rup y 50%Est ($F=4,59$ y $F=2,97$; $p< 0,001$ y $0,0035$, respectivamente). Los %Rup no superaron el 20% en SEBA, Córdoba Norte, Núcleo y Valle de Uco en todas las fechas de siembra. Expresó los mayores rendimientos en las FS tempranas, en todas las ZProd a excepción del Valle de Uco, donde su performance fue muy baja. La utilización de los G3 y G4 como progenitor

femenino para la producción comercial de semilla híbrida no requerirá de labores especiales, ya que la androesterilidad se mantuvo. En todas las Zonas de Producción de semilla habrá que garantizar la provisión del polen del progenitor masculino, adecuando la densidad de siembra de la línea masculina así como la relación de siembra en los lotes de producción de semilla a campo; para el G4 será necesaria una labor de remoción de panojas en algunas ZProd. Los resultados de este trabajo pusieron de manifiesto que en estas líneas endocriadas la reversión parcial de la androesterilidad requiere de manejos diferenciales en las distintas Zonas de Producción y durante la ventana de fechas de siembra. Las labores de remoción de las panojas así como el momento de realización y la intensidad de las mismas dependerán del %Rup y del 50%Est. Fue posible identificar fechas de siembra óptimas para todos los genotipos en las distintas ZProd lo que facilitará la expresión de los rendimientos potenciales de las líneas endocriadas. Estos resultados fundamentan la diversificación del riesgo en un área geográfica, estrategia básica de la industria de semillas para asegurar producción. Lograr el mayor rendimiento, simplificando el manejo operativo del despanojado para cada línea posibilitará la obtención de semilla híbrida de calidad genética máxima, optimizando el uso de los recursos humanos, económicos y ambientales, haciendo posible un mundo mejor.

ABSTRACT

The performance and male sterility expression of four inbred cytoplasmatic male-sterile hybrid progenitor females lines from the company's portfolio were evaluated in six production zones -ZProd- (Southeast and Southwest of the province of Buenos Aires, SEBA SOBA respectively; San Luis, Córdoba Norte, Núcleo and Valle de Uco) and at sowing dates -FS- between October and December 2019. The inbreds were planted in a randomized complete block design, with three replications. The percentages of androsterility reversion -%Rup- related to the date of 50% silk -50%Est- visible were recorded for each genotype as well as the yield, expressed as Bags ha⁻¹. Genotype 1 showed interactions between FS and ZProd ($F= 36.78$ and $F=5.52$; $p<0.001$). The %Rup ranged from 1.5 to 45% and expressed high yields. The pollen emission and the moment in which it was registered in relation to 50%Est allow to propose a conventional management of dehusking in all the ZProd, except in SOBA and some sowing dates of San Luis where pollen emission was almost negligible, avoiding in these cases the removal of tassels. Genotype 2, although male sterile, showed a behavior highly influenced by the environment, emitting pollen in all ZProd and in all sowing seasons ($F= 36.78$ and $F=5.52$; $p<0.001$). The reversion ranged from 50 to 90% Rup and showed the highest average yield in all sowing dates. In the cases of Genotypes 1 and 2 and depending on the relationship between %Rup and 50%Est, the time of tassels removal would be different. If the cytoplasmatic sterility reversion were recorded before the 50%Est date, the dehusking should be done earlier since the genetic purity of the hybrid seed could be at risk. The potential decrease in leaf area would be greater. If the reversion were coincident or after the 50%Est date, the tassel will be more exposed; the efficiency of extraction of the tassels will be greater, with less reduction in leaf area. Subsequently, and in both situations, personnel will enter afterwards to manually go over the dehusking work. For Genotype 3, significant interactions were also detected for %Rup and 50%Est between FS and ZProd ($F= 7.78$ and $F=11.55$; $p< 0.0001$). In San Luis and SOBA, no sterility reversion was found in. In others Zprod maximal reversion were among 2% and 13, yielding from 130 to 155 Bags ha⁻¹. The use of this Genotype 3 as a female parent for the commercial production of hybrid seed will not require special work, since male sterility is maintained. Genotype 4 in the different FS had significant interaction with ZProd for

%Rup and 50%Est ($F=4.59$ and $F=2.97$; p 0.001 and 0.0035, respectively). The %Rup did not exceed 20% in SEBA, Córdoba Norte, Núcleo and Valle de Uco at all planting dates; expressed the highest yields in the early FS in all the ZProd except for the Uco Valley, where its performance was very low. In any of the Production Zones, the field approach for G3 and G4 would consist of providing a male parent with high pollination capacity, by adjusting the planting density of the male line and by arranging a field planting ratio between the male and female parents which maximizes pollen availability. The female line G4 will require in some ZProd a leaf removal task.

These field results showed that partial cytoplasmatic sterility in these inbreds were highly depended on ZProd and FS and asked for specifics management. The tassels removal, theirs time and intensity will depend on the %Rup and 50%Est.

Optimal combinations between sowing time and ZProd have been found looking for the potential inbreds lines performance highest expression. On all the aforementioned grounds and results, the hybrid seed production geographic risk could be minimized which constitutes a basic strategy of the seed industry. Achieving the highest yield, simplifying the operational management of detasseling for each line will make it possible to obtain hybrid seed of maximum genetic quality, optimizing the use of human, economic and environmental resources, making a better world, possible.

INTRODUCCIÓN

El maíz es el cultivo de mayor área sembrada y cosechada del mundo (USDA, <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>, 2022). La producción de maíz se basa en la producción de sus semillas, ya que la semilla es un insumo estratégico y el primero de la cadena agropecuaria. La industria semillera en Argentina es un clúster consolidado de empresas familiares, nacionales y multinacionales. Es la que agrega más valor en la cadena agroindustrial. Mientras que un kilo de semilla puede valer más de US\$ 10, un kilo de maíz *commodity* aproximadamente cuesta US\$ 0,20.

La Argentina es uno de los principales productores mundiales de maíz y se ubica entre los tres principales exportadores a nivel mundial. Para la campaña 22/23, las estimaciones del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, USDA, señalan que el área cultivada de maíz será de 7 millones de hectáreas y que se producirán 55 millones de toneladas, lo que lo posiciona como el segundo cultivo a nivel nacional en cuanto a superficie y volumen. (USDA, <https://apps.fas.usda.gov>, acc2022). En nuestro país se exporta cerca del 80% del volumen producido, valores que ascenderían a 52 millones de Tn. El maíz tiene múltiples usos, siendo los principales su utilización como alimento humano y animal, como semilla y para usos industriales.

El maíz híbrido explota el fenómeno de “heterosis” o “vigor híbrido”. Este concepto esbozado por primera vez por Schull en 1909 y cronologizado acabadamente por Hayes en 1952, establecía la superioridad en el desempeño del híbrido F1 respecto del de sus líneas parentales endocriadas. Más recientemente se acuñó y utiliza el concepto de heterosis útil, considerando el rendimiento del híbrido experimental con el de un testigo comercial de destacada performance. La explotación del fenómeno de heterosis en Argentina dio lugar a la adopción del uso masivo de híbridos; en la década del 90 comenzaron a utilizarse los híbridos simples, cuya adopción es creciente. A los rendimientos potenciales intrínsecos derivados de la explotación de la heterosis se le adiciona el paquete tecnológico ambiente específico y la disponibilidad de avances biotecnológicos. De acuerdo con datos del sistema de certificación nacional de semilla de INASE, la producción de semilla fiscalizada en “la categoría de semilla de maíz

híbrida simple” constituye el 96 % del total de los rótulos emitidos para comercializar en todas las categorías de semilla de maíz (INASE, 2021).

La obtención y producción de materiales híbridos, en general, comprende dos fases. La primera consiste en la obtención de líneas puras o endocriadas con buen desempeño y aptitud productora de semilla que reúnan características de interés. Este proceso se logra a través de sucesivas autofecundaciones mientras se evalúa el comportamiento “per se” de las líneas. Luego se estudia el comportamiento de las líneas en combinación con otras para determinar su utilidad en la formación de híbridos, identificándose con la Aptitud Combinatoria Específica las combinaciones híbridas superiores. Posteriormente y ya identificada la mejor combinación híbrida, se procede a la producción de su semilla híbrida.

En el caso de los híbridos simples se trata de una generación F1 entre dos líneas endocriadas; una de ellas utilizada como parental o progenitor femenino, y la otra como parental o progenitor masculino. La línea progenitora femenina tiene como objetivo lograr la mayor productividad de semilla. En este parental es deseable un buen comportamiento para vuelco, uniformidad de emergencia de estigmas, buena excursión de la panoja, protandria marcada y buen comportamiento frente al despanojado (Beck, 2002). La línea parental masculina tiene como principal función proveer el polen, debe producir abundante cantidad de granos polen para poder fecundar otras plantas (Schoper et al., 1987; Ma et al., 2004). La coincidencia en floración entre ambos progenitores es fundamental para lograr que la hibridación así como la obtención del producto comercial sean exitosas. El rendimiento de los sistemas de producción de semilla híbrida en alógamas requiere de una óptima sincronía floral entre los estigmas receptivos del parental femenino y la emisión de polen del parental masculino además de una cantidad no limitante de polen por estigma a ser polinizado (Bassetti y Westgate, 1994). Las líneas polinizadoras deberán liberar polen durante todo el intervalo temporal mientras los estigmas estén receptivos para garantizar tanto el rendimiento como el elevado nivel de pureza genética necesario en la producción de semilla híbrida (Fonseca et al., 2003).

El maíz es una especie monoica y alógama, con polinización cruzada. Cada planta presenta ambas inflorescencias, femenina y masculina, separadas morfológicamente,

lo que garantiza mediante su agente polinizador, el viento, la polinización cruzada. En maíz, la posición de la inflorescencia masculina es apical, se diferencia y desarrolla antes que la inflorescencia femenina que es axilar. La protandria o tendencia a la maduración de las gametas masculinas antes que las femeninas podría estar originada en la dominancia apical. La maduración de las gametas femeninas se produce *a posteriori*. La duración de la protandria y el intervalo de tiempo entre ambas floraciones -intervalo antesis-estigmas- es crucial para el manejo de la polinización, sea la autofecundación o la polinización cruzada con otro polen. En consecuencia, los genotipos de maíz modernos tienen menores intervalos entre antesis y diferenciación de estigmas (Sangoi y Salvador, 1998).

En la producción comercial de semilla híbrida, es preciso remover las inflorescencias masculinas de las líneas que actuarán como parentales femeninos para evitar su autofecundación, por lo que se extraen físicamente las estructuras reproductivas masculinas o panojas, proceso que se denomina “despanojado”. El despanojado, mecánico o manual del parental femenino puede disminuir el índice de área foliar (IAF) pues remueve superficie foliar que intercepta la radiación fotosintéticamente activa, reduciendo la cantidad de biomasa y afectando negativamente el rendimiento de la producción de semilla híbrida de maíz. La biomasa producida por un cultivo depende de la tasa fotosintética promedio de su canopeo que se relaciona con la cantidad de radiación fotosintéticamente activa que pueden interceptar las hojas. Por lo tanto, la radiación interceptada (RI) depende del IAF.

La panoja emerge completamente a través del cogollo cuando las hojas superiores están completamente expandidas, se elongaron los últimos entrenudos y su eliminación debe hacerse siempre antes del inicio de la antesis. En este momento, la panoja puede estar aún cubierta por una cantidad variable de hojas adyacentes o puede estar completamente exerta; esto determinará que la mayor o menor remoción de las hojas implique distintos niveles de reducción del IAF y por tanto de la radiación interceptada por el canopeo, afectándose la tasa fotosintética. Si las panojas de las líneas parentales femeninas tuvieran un pedúnculo largo o hubieran completado su ejerción se afectaría al mínimo el IAF cuando se ingresa al lote para realizar el despanojado. El despanojado es una labor que demanda valiosos recursos económicos y la remoción del área foliar subyacente genera también distorsiones en el

rendimiento; sumadas contribuyen a que esta labor sea una de las actividades más costosas en la producción de semillas de maíz.

Existen también otras técnicas para impedir la autofecundación como la castración química que evita la formación y/o dispersión de los granos de polen así como el uso de la androesterilidad. La androesterilidad citoplasmática es un carácter de herencia materna que impide el desarrollo de polen funcional (Laser y Lersten, 1972; Schnable y Wise, 1998) debido a la pérdida de la función del genoma mitocondrial (Chase y Gabay-Laughnan, 2004). Esta mutación causa una disfunción en el metabolismo respiratorio y como consecuencia se producen gametas masculinas sub-normales (Budar et al., 2003; Chase, 2006). Las plantas producen poco polen o si lo producen no es vital, mientras que no se afecta la fertilidad de las gametas femeninas. Este es un carácter muy interesante para la industria de semillas híbridas. Su utilización en líneas parentales androestériles como progenitores femeninos abrió nuevos horizontes en la producción comercial de semilla híbrida de maíz (Stamp et al., 2000) planteando ventajas económicas y logísticas de importancia (Mackenzie et al., 2004).

Actualmente existen tres tipos de fuentes de androesterilidad citoplasmática. En el caso de este trabajo final, se estudiaron cuatro líneas endocriadas, dos de ellas con los citoplasmas estériles Charrúa - C - y dos con el citoplasma - S - de USDA y de aparición natural en una población de maíz peruana. El comportamiento y expresión de estos citoplasmas androestériles y/o el grado de esterilización de la panoja puede diferir. Los citoplasmas pueden expresarse en los genotipos: pueden ser completamente androestériles y no producir anteras fértiles, pueden presentar una reversión parcial o total de la fertilidad produciendo algunas pocas anteras o ser genotipos casi completamente fértiles, lo que afectaría la calidad de la semilla híbrida a producir. La estabilidad en la expresión de la androesterilidad depende del genotipo, del ambiente así como de la interacción entre ambos.

La producción de los mayores rendimientos de semilla híbrida con extrema pureza genética es uno de los aspectos de la calidad sobre la que se basa la exitosa industria de semilla híbrida, por lo tanto se deben activar todas las medidas que permitan reducir los riesgos de contaminación genética. La sincronización de las floraciones entre los parentales femeninos y masculinos y la identificación y eliminación de

cualquier fuente de polen extraño minimizan el riesgo de contaminaciones que podrían disminuir la pureza. En el caso de las líneas parentales femeninas portadoras del carácter androestéril, si se detectara reversión, es decir plantas con anteras visibles emitiendo polen, el fenómeno se denominará ruptura de la androesterilidad a los fines de este trabajo. Si esto sucediera y además se pudiera conocer el momento cuándo se visibilizan las anteras, se podría definir la oportunidad y la estrategia de remoción de las inflorescencias masculinas, precisando la mejor oportunidad que permita minimizar el impacto del despanojado sobre el IAF.

La duración de la protandria es un carácter de mucha importancia para la industria de la semilla. El mayor intervalo entre la antesis y la emisión de estigmas facilita que el despanojado sea menos agresivo, ya que la panoja podría estar completamente exerta, pudiendo eliminarse sin reducciones significativas del área foliar subyacente, posibilitando que un mayor número de sus hojas, ya completamente expandidas, permanezcan fotosintéticamente activas y en la planta.

El éxito de la producción comercial de semilla híbrida se cuantifica, a través de la cantidad de bolsas de semilla comercialmente útil producidas por hectárea de progenitor femenino al menor costo de producción posible. Para lograr producir la mayor cantidad de bolsas de semilla híbrida es menester conocer profundamente la dinámica de floración de sus progenitores, los momentos de liberación de polen en relación con la receptividad de los estigmas y sincronizarla por medio de decisiones de siembra y agronómicas. La diversificación de riesgos que impone la producción comercial de semilla de maíz conlleva el establecimiento de distintas zonas de producción de semilla híbrida. Conocer el comportamiento de las cuatro líneas endocriadas con dos citoplasmas androestériles e identificar la expresión potencial de la androesterilidad, su eventual reversión y dinámica nos permitirá optimizar las estrategias de manejo en el momento previo a la floración -maquinaria, personal- optimizando la asignación de los recursos en los distintos lotes de producción.

OBJETIVOS

a. Objetivo general:

- Evaluar la expresión de androesterilidad citoplasmática y del rendimiento en cuatro líneas endocriadas femeninas progenitoras de híbridos de maíz en seis zonas de producción de semilla.

b. Objetivos específicos:

- Conocer el comportamiento de la androesterilidad y su relación con la floración femenina para cada una de las cuatro líneas endocriadas.
- Identificar combinaciones entre fechas de siembra y zonas de producción que potencien la expresión del rendimiento.

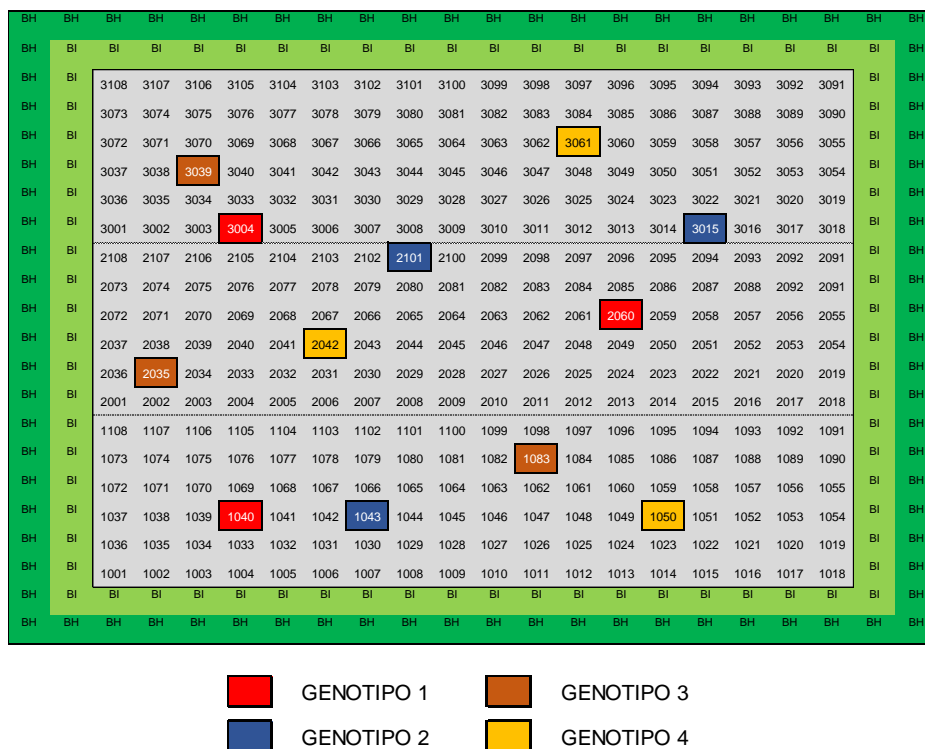
MATERIALES Y MÉTODOS

Se sembraron cuatro líneas endocriadas y con androesterilidad citoplasmática, denominadas Genotipo 1, Genotipo 2, Genotipo 3, Genotipo 4 – G1, G2, G3 y G4 - en: Camet, Coronel Suárez, San Luis, Jesús María, Venado Tuerto y Tunuyán. Estas ubicaciones corresponden a las siguientes zonas de producción (ZProd): Sudeste y Sudoeste de la provincia de Buenos Aires, SEBA SOBA respectivamente; San Luis, Córdoba Norte, Núcleo, provincia de Santa Fe y Valle de Uco, provincia de Mendoza. Los ensayos se sembraron en 2019 en tres y cuatro fechas de siembra (FS), información que se detalla en la Tabla 1. Los Genotipos 1 y 2 tienen citoplasma androestéril C mientras que los Genotipos 3 y 4 el citoplasma S. Los cuatro Genotipos, con androesterilidad citoplasmática se sembraron en parcelas experimentales en un diseño de bloques completos aleatorizados, con tres repeticiones. Las cuatro líneas endocriadas androestériles se incluyeron dentro de un ensayo de evaluación de líneas endocriadas *per se* ó *top cross* cuyo diagrama a campo se presentó en la Figura 1. Con color se rellenaron las parcelas correspondientes a las cuatro líneas estudiadas en este trabajo final. Las plantas de las parcelas fueron polinizadas por una mezcla al azar de polen proveniente del ensayo *top cross* en el que se incluyeron. Un diagrama de siembra similar se sembró en todas las ZProd y FS. El tamaño de las parcelas experimentales fue de 10,4 m² (4 surcos a 0,52 m, por 5 m de largo), con una densidad de siembra de 100.000 pl ha⁻¹.

Tabla 1: Listado de las Zonas de Producción (ZProd) y fechas de siembra (FS) de los ensayos sembrados en 2019.

| ZONA DE PRODUCCION | FECHA DE SIEMBRA |
|--------------------|--------------------|
| SEBA | OCT1Q-(07/10/2019) |
| | OCT2Q-(31/10/2019) |
| | NOV2Q-(18/11/2019) |
| | DEC1Q-(03/12/2019) |
| SAN LUIS | OCT1Q-(14/10/2019) |
| | NOV1Q-(04/11/2019) |
| | NOV2Q-(26/11/2019) |
| SOBA | DEC1Q-(10/12/2019) |
| | OCT1Q-(10/10/2019) |
| | OCT2Q-(29/10/2019) |
| CORDOBA NORTE | NOV2Q-(20/11/2019) |
| | DEC1Q-(04/12/2019) |
| | SEP2Q-(20/09/2019) |
| NUCLEO | OCT2Q-(19/10/2019) |
| | NOV2Q-(24/11/2019) |
| | DEC2Q-(19/12/2019) |
| VALLE DE UCO | SEP2Q-(23/09/2019) |
| | OCT2Q-(26/10/2019) |
| | NOV2Q-(23/11/2019) |
| | OCT1Q-(13/10/2019) |
| | NOV1Q-(08/11/2019) |
| | NOV2Q-(28/11/2019) |

Figura 1: Diseño del ensayo rodeado por una bordura interna (BI) y una bordura externa (BH). La ubicación de las cuatro líneas endocriadas estudiadas está marcada con relleno.



Cuando cada línea llegó a su etapa reproductiva y en cada una de las parcelas experimentales en todas las Zonas Productivas se efectuaron las siguientes mediciones:

Fecha 50% estigmas - 50% Est: La fecha al 50 % Est se registró cuando el 50% de las plantas de los dos surcos centrales de cada parcela y cada repetición presentaron R1, estigmas visibles (Ritchie et al., 1982).

Porcentaje de ruptura de androesterilidad - %Rup: Cuando las líneas llegaron a su etapa reproductiva se verificó la expresión de la androesterilidad. Para ello se buscaron las plantas que restauraron la fertilidad, aquellas cuyos órganos masculinos se encontraban produciendo anteras que liberaban polen y se registró la fecha (VT, Ritchie et al., 1982). Los recuentos fueron diarios y durante todo el período de la anthesis sobre los cuatro surcos de cada parcela experimental y en cada repetición. En cada uno de los recuentos se contó la cantidad de plantas cuyas panojas emitían polen y el total de plantas de la parcela y se calculó el cociente entre la cantidad de plantas de la parcela que emitían polen sobre el total de plantas de la parcela. El %Rup se obtuvo promediando los valores entre los cocientes de las mediciones diarias.

Rup Máx: Se registró además el % de ruptura promedio máximo que presentó cada Genotipo en cada ZProd y FS.

Días desde respecto a 50% Est: La visualización y recuento diario de plantas con panojas con anteras emitiendo polen permitió después referenciarlo con respecto al momento de 50% Est. El momento del %Rup se clasificó como previo, coincidente o posterior al 50% Est.

Rendimiento Bolsas ha⁻¹: Se cosecharon y trillaron los dos surcos centrales de cada parcela con cosechadora autopropulsada de parcelas cuando los genotipos tuvieron entre 25 y 28% de humedad. Se determinó el peso de cada parcela y los valores se corrigieron sobre la base de 14,5 % de Humedad con la siguiente fórmula:

$$(14,5 - Hi)$$

$$Pf = Pi + \frac{(14,5 - Hi)}{100 * Pi}$$

Donde:

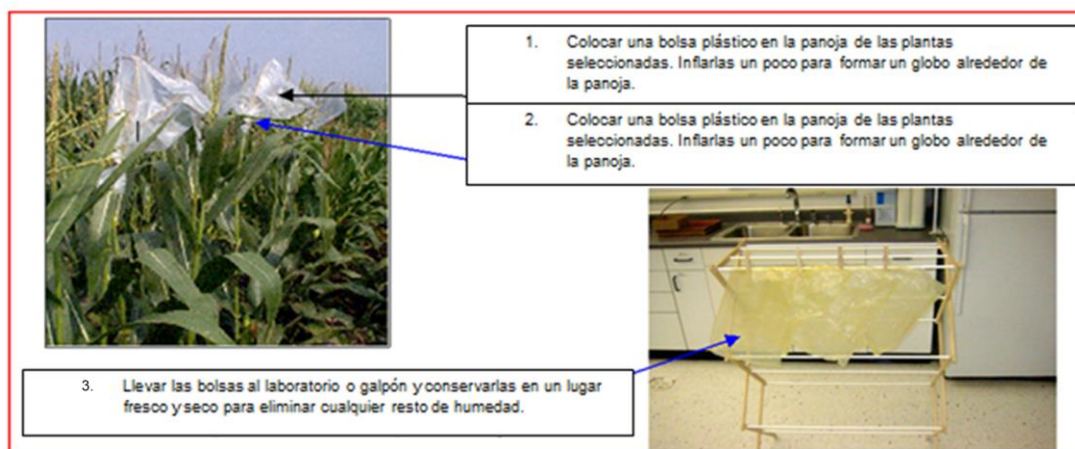
Pi = Peso inicial de cada muestra antes del secado;

Hi = Peso de cada muestra secada y desgranada.

La muestra de trabajo fue de un kg de semilla; ésta se secó, se procesó para estimar la semilla útil para comercializar, posteriormente se obtuvo el peso de 1000 semillas. El rendimiento se expresó como número de Bolsas ha⁻¹

Producción de polen. Se cuantificó la cantidad de granos de polen por panoja en 100 plantas del Genotipo 1 cuando estas presentaron anteras emitiendo polen. Para ello, se cubrieron sus panojas con bolsas para coleccionar el polen emitido a campo durante un período de 10 días. Se realizó el procesamiento de la muestra según protocolos internos y se hizo el recuento del número de granos de polen panoja⁻¹ por medio de una contadora de polen.

Figura 2: Procedimiento recolección de polen.



Los datos de las variables medidas se analizaron con el software estadístico Infostat (Di Rienzo et al., 2020) Se realizaron análisis de variancia paramétricos y no paramétricos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las Tablas 2, 6, 10 y 14 se presentó información de las distintas fechas de siembra (FS) para las variables estudiadas: 50% Est y los valores máximos promedio que tuvo el %Rup para cada Zona de Producción (ZProd). Los ensayos y las mediciones a campo realizadas permitieron obtener información de las variables en los cuatro genotipos evaluados y en cada una de las zonas de producción de este experimento. En este trabajo, los genotipos se analizaron individualmente debido al interés específico de conocer su comportamiento.

Genotipo 1:

En la Tabla 2 se presentan las fechas para 50% Est y los %Rup Max. en las seis ZProd y sus FS.

Tabla 2- Fechas al 50% Estigmas y valores promedio de %Rup Máx para todas las ZProd y FS.

| MATERIAL | ZProd | FECHA DE SIEMBRA | 50%EST | % Rup Max |
|--------------------|---------------|--------------------|------------|-----------|
| GENOTIPO 1 | SEBA | OCT1Q-(07/10/2019) | 17/1/2020 | 26 |
| | | OCT2Q-(31/10/2019) | 25/1/2020 | 2 |
| | | NOV2Q-(18/11/2019) | 6/2/2020 | 87 |
| | | DEC1Q-(03/12/2019) | 19/2/2020 | 39 |
| | SAN LUIS | OCT1Q-(14/10/2019) | 30/12/2019 | 0 |
| | | NOV1Q-(04/11/2019) | 11/1/2020 | 7 |
| | | NOV2Q-(26/11/2019) | 29/1/2020 | 0 |
| | | DEC1Q-(10/12/2019) | 10/2/2020 | 0 |
| | SOBA | OCT1Q-(10/10/2019) | 23/1/2020 | 6 |
| | | OCT2Q-(29/10/2019) | 29/1/2020 | 4 |
| | | NOV2Q-(20/11/2019) | 12/2/2020 | 0 |
| | | DEC1Q-(04/12/2019) | 22/2/2020 | 36 |
| | CORDOBA NORTE | SEP2Q-(20/09/2019) | 16/12/2019 | 15 |
| | | OCT2Q-(19/10/2019) | 30/12/2019 | 36 |
| | | NOV2Q-(24/11/2019) | 27/1/2020 | 24 |
| | | DEC2Q-(19/12/2019) | 18/2/2020 | 100 |
| | NUCLEO | SEP2Q-(23/09/2019) | 19/12/2019 | 48 |
| | | OCT2Q-(26/10/2019) | 6/1/2020 | 36 |
| | | NOV2Q-(23/11/2019) | 3/2/2020 | 25 |
| | VALLE DE UCO | OCT1Q-(13/10/2019) | 7/1/2020 | 41 |
| NOV1Q-(08/11/2019) | | 23/1/2020 | 45 | |
| NOV2Q-(28/11/2019) | | 9/2/2020 | 50 | |

En la Tabla 2 se pudo observar que hubo diferencias para la variable % Rup Máx entre las distintas zonas y entre las distintas fechas de siembra.

El Genotipo 1 presentó %Rup Máx inferiores al 15% en San Luis y SOBA. En las ZProd SEBA, Córdoba Norte, Núcleo y Valle de Uco los valores fueron más elevados, se registraron % Rup Máx cercanos al 40%. La ZProd Núcleo tuvo valores de % Rup Máx elevados, disminuyendo acorde al atraso de las fechas de siembra. En Córdoba Norte los valores máximos fueron en la última fecha de siembra.

Tabla 3- Anva para el Número de plantas con ruptura -% Rup- para el Genotipo 1

| F.V. | gl | CM | F | p-valor |
|----------|----|---------|-------|---------|
| Modelo | 21 | 1929,69 | 39,75 | <0,0001 |
| FS | 3 | 1079,24 | 22,23 | <0,0001 |
| ZProd | 5 | 2814,64 | 57,98 | <0,0001 |
| FS*ZProd | 13 | 1785,59 | 36,78 | <0,0001 |
| Error | 43 | 48,54 | | |

Tabla 4 - Anva para 50% Est para el Genotipo 1

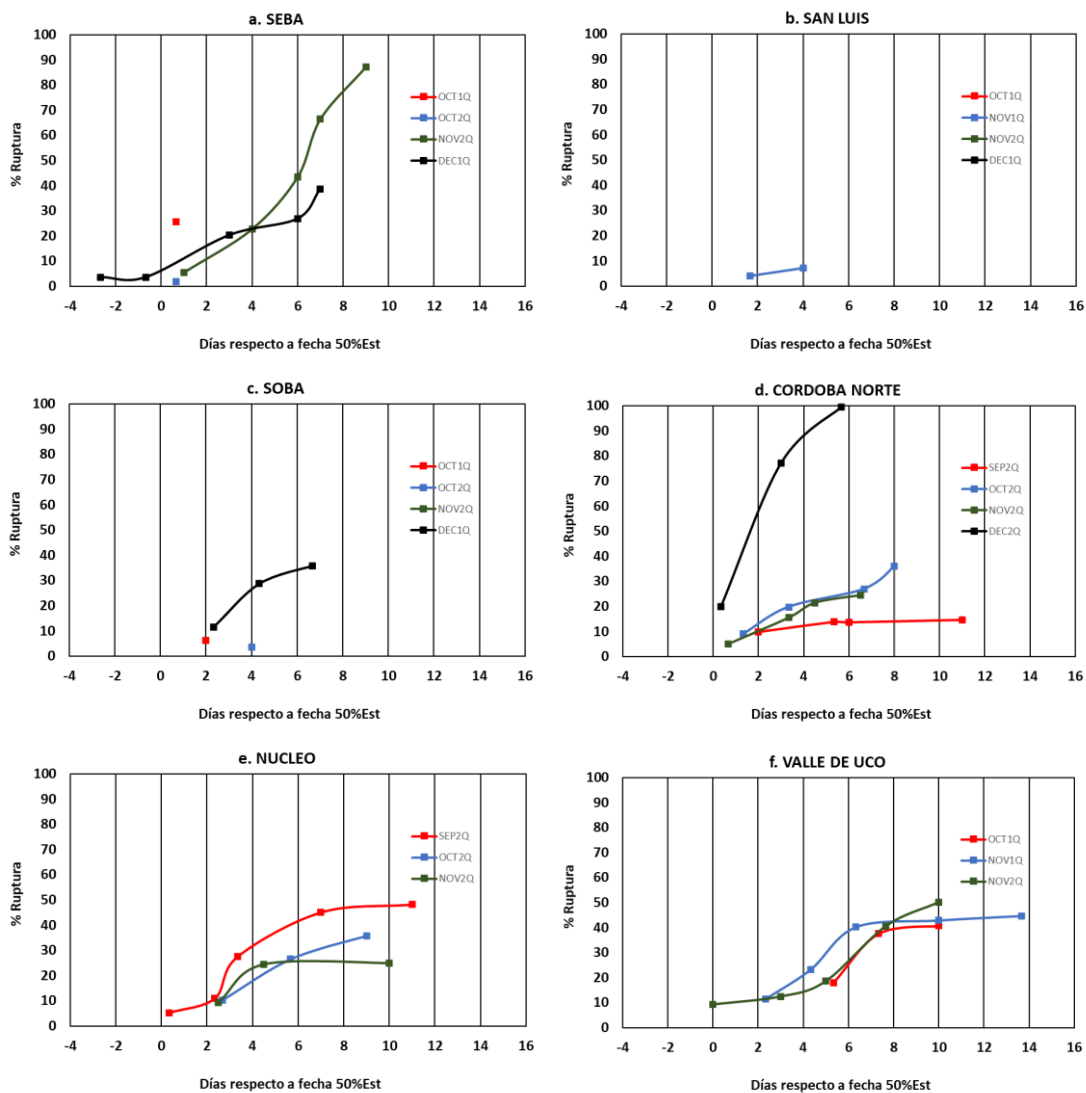
| F.V. | gl | CM | F | p-valor |
|----------|----|--------|-------|---------|
| Modelo | 21 | 51,99 | 11,08 | <0,0001 |
| FS | 3 | 4,88 | 1,04 | 0,3848 |
| ZProd | 5 | 148,08 | 31,55 | <0,0001 |
| FS*ZPRod | 13 | 25,90 | 5,52 | <0,0001 |
| Error | 43 | 4,69 | | |

Los análisis de variancia de las Tablas 3 y 4 muestran que, para ambas variables, se detectaron interacciones significativas entre las FS y las ZProd ($F= 36,78$ y $F=5,52$; $p< 0,001$). Con el objetivo de desglosarlas y conocerlas, se representó la evolución temporal del %Rup en relación con los días al 50% Est en un sistema de ejes X e Y durante todo el período de liberación de polen y para cada ZProd. En el eje X se graficó el momento de la reversión o emisión del polen, es decir los días respecto a la fecha del 50% Est. Los momentos se clasificaron en: previo, coincidente y posterior al 50% Est. En el eje X el valor 0 se consideró cuando el promedio de las parcelas alcanzó el 50% Est, o sea *coincidente*. Los valores negativos (-2, - 4) indicaron panojas emitiendo polen antes del 50% Est, clasificado como *previo*. Los positivos (2, 4) indicaron panojas emitiendo polen después que se registró el 50% Est, este momento se clasificó como posterior. La representación gráfica fue posible debido a se disponía de los valores de

todos los recuentos diarios de plantas con panojas emitiendo polen. Esta evolución se muestra en los Gráficos 1.a al 1.f.

%Ruptura respecto a fecha 50% Est:

Gráfico 1: Evolución del % Ruptura en función de la fecha del 50% Estigmas para cada una de las Zonas de Producción para el Genotipo 1.



En las ZProd estudiadas se encontraron plantas con anteras emitiendo polen a partir del 50% Est. En la ZProd SEBA se registró un comportamiento diferente: la emisión de polen comenzó entre 1 y 3 días previos al registro del 50% Est. (Gráfico 1.a).

Rendimiento Bolsas ha⁻¹

En la Tabla 5 se presenta el rendimiento en Bolsas ha⁻¹ en las distintas ZProd y FS.

Tabla 5: Número de Bolsas ha⁻¹ producidas en cada Zona de Producción y Fecha de siembra

| Genotipo 1 | SEP2Q | OCT1Q | OCT2Q | NOV1Q | NOV2Q | DIC1Q | DIC2Q |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| CORDOBA NORTE | 116 | 132 | 141 | 144 | 141 | 132 | 118 |
| SAN LUIS | | 157 | 161 | 163 | 162 | 158 | |
| NUCLEO | 154 | 157 | 153 | 140 | 123 | 95 | |
| SEBA | | 155 | 140 | 131 | 131 | 139 | |
| SOBA | | 170 | 162 | 154 | 148 | 142 | |
| VALLE DE UCO | | 183 | 232 | 236 | 194 | 95 | |

El Genotipo 1 mostró los mayores rendimientos promedios (152 Bolsas ha⁻¹) en todas las ZProd.

En Valle de Uco y San Luis este Genotipo rindió, en toda la ventana de fechas de siembra, 188 y 160 Bolsas ha⁻¹ respectivamente. En SOBA rindió en promedio 155 Bolsas ha⁻¹, disminuyendo al atrasarse las FS. Las zonas Núcleo y SEBA mostraron los mayores rendimientos en las fechas de siembras más tempranas (155 Bolsas ha⁻¹). En Córdoba Norte, este Genotipo tuvo el menor promedio (132 Bolsas ha⁻¹; Tabla 5).

El Genotipo 1 expresó:

En Valle de Uco, los rendimientos más elevados en Bolsas ha⁻¹ así como el máximo valor promedio de %Rup Max.

En Córdoba Norte, SEBA y Núcleo tuvo los menores rendimientos promedio en Bolsas ha⁻¹, expresando valores promedio de %Rup Máx, entre 36 y 43%.

En San Luis, rindió en promedio 160 Bolsas ha⁻¹ durante las cuatro FS de este experimento. Solo se encontró un 7% de %Rup Máx dos días después del 50% Est.

En SOBA rindió en promedio 158 Bolsas ha⁻¹ durante las cuatro fechas de siembra de octubre y noviembre, con %Rup Máx menores del 6%, dos días después del 50% Est.

El período de liberación de polen fue coincidente o posterior al 50% Est (Gráficos 1.d, 1.e y 1.f) en Cordoba Norte, Núcleo y Valle de Uco. La eliminación de las panojas afectaría al mínimo el área foliar.

Otra situación se manifestó en SEBA, ya que la emisión de anteras se adelantó al 50% Est (Gráfico 1.a). En esta situación, se deberá adelantar el momento de la remoción de las panojas afectando, posiblemente, el área foliar. Si la labor de remoción fuera mecánica y se hiciera con un *cutter*, el ingreso del personal temporario a *posteriori* permitirá inspeccionar el estado del lote y en caso que aún hubiese presencia de panojas, serán removidas. De acuerdo con los datos presentados en la Tabla 5, los rendimientos en Bolsas ha⁻¹ de semilla híbrida fueron menores a los objetivos comerciales.

Un manejo distinto se podría realizar en San Luis durante siembras de octubre y noviembre y en SOBA durante todas las siembras de octubre y las de la segunda quincena de noviembre. En estos casos hubo escasa cantidad de plantas con panojas que revirtieron, las anteras emitiendo polen fueron dos días después del 50% Est; el comportamiento del Genotipo 1 no demandará la remoción de las panojas. En los lotes de producción de semilla cuando se utilice este Genotipo con citoplasma androestéril C como progenitor femenino será menester proveer una adecuada cantidad de polen masculino por medio de una correcta elección de la relación de siembra entre la cantidad de surcos femeninos y masculinos, lo que tenderá a garantizar la pureza genética de la semilla producida.

Genotipo 2:

En la Tabla 6 se presentan las fechas para 50% Est y los %Rup Máx. en las seis ZProd y sus FS.

Tabla 6- Fechas al 50% Estigmas y valores promedio de %Rup Máx para todas las ZProd y FS.

| MATERIAL | ZProd | FECHA DE SIEMBRA | 50%EST | % Rup Max |
|--------------------|---------------|-------------------------|---------------|------------------|
| GENOTIPO 2 | SEBA | OCT1Q-(07/10/2019) | 17/1/2020 | 2 |
| | | OCT2Q-(31/10/2019) | 25/1/2020 | 71 |
| | | NOV2Q-(18/11/2019) | 6/2/2020 | 88 |
| | | DEC1Q-(03/12/2019) | 19/2/2020 | 45 |
| | SAN LUIS | OCT1Q-(14/10/2019) | 30/12/2019 | 86 |
| | | NOV1Q-(04/11/2019) | 11/1/2020 | 91 |
| | | NOV2Q-(26/11/2019) | 29/1/2020 | 72 |
| | | DEC1Q-(10/12/2019) | 10/2/2020 | 91 |
| | SOBA | OCT1Q-(10/10/2019) | 23/1/2020 | 64 |
| | | OCT2Q-(29/10/2019) | 29/1/2020 | 40 |
| | | NOV2Q-(20/11/2019) | 12/2/2020 | 69 |
| | | DEC1Q-(04/12/2019) | 22/2/2020 | 76 |
| | CORDOBA NORTE | SEP2Q-(20/09/2019) | 16/12/2019 | 36 |
| | | OCT2Q-(19/10/2019) | 30/12/2019 | 67 |
| | | NOV2Q-(24/11/2019) | 27/1/2020 | 98 |
| | | DEC2Q-(19/12/2019) | 18/2/2020 | 92 |
| | NUCLEO | SEP2Q-(23/09/2019) | 19/12/2019 | 69 |
| | | OCT2Q-(26/10/2019) | 6/1/2020 | 80 |
| | | NOV2Q-(23/11/2019) | 3/2/2020 | 96 |
| | VALLE DE UCO | OCT1Q-(13/10/2019) | 7/1/2020 | 100 |
| NOV1Q-(08/11/2019) | | 23/1/2020 | 86 | |
| NOV2Q-(28/11/2019) | | 9/2/2020 | 93 | |

El Genotipo 2 evidenció el %Rup Máx promedio más elevado de este ensayo que osciló entre el 50% y 90% en todas las ZProd. En las ZProd Córdoba Norte y Núcleo, el %Rup Máx se incrementó a medida que se atrasaron las fechas de siembra.

Tabla 7 - Anva para el Número de plantas con ruptura -% Rup- para el Genotipo 2 y su significado

| | gl | CM | F | p-valor |
|------------|----|---------|------|---------|
| Modelo | 21 | 1759,37 | 6,00 | <0,0001 |
| FS | 3 | 21,66 | 7,24 | 0,0005 |
| ZProd | 5 | 1769,66 | 6,04 | 0,0002 |
| FS * ZProd | 13 | 1671,81 | 5,70 | <0,0001 |

Tabla 8 - Anva para 50% Est para el Genotipo 2 y su significado

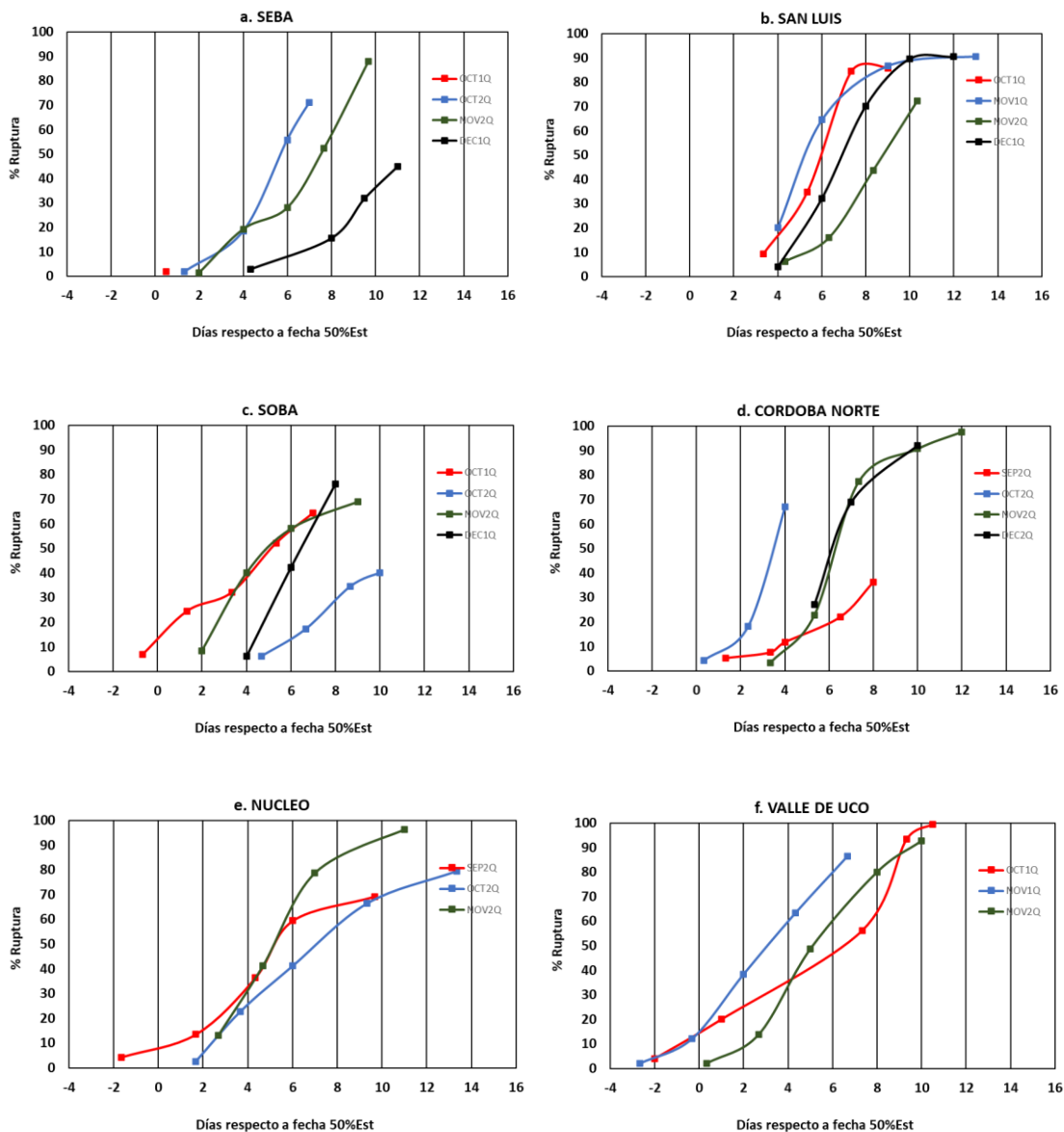
| F.V. | gl | CM | F | p-valor |
|------------|----|-------|------|---------|
| Modelo | 21 | 22,14 | 3,37 | 0,0003 |
| FS | 3 | 44,13 | 6,71 | 0,0008 |
| ZProd | 5 | 20,00 | 3,04 | 0,0192 |
| FS * ZProd | 13 | 17,89 | 2,72 | 0,0066 |
| Error | 44 | 6,58 | | |

Los análisis de variancia de las Tablas 7 y 8 mostraron que, para ambas variables, se detectaron interacciones significativas entre las FS y las ZProd ($F= 36,78$ y $F=5,52$; $p < 0,001$). De la misma manera que para el Genotipo 1, para el Genotipo 2 también se graficó la evolución temporal del %Rup en relación con los días al 50% Est, la que se presentó en los Gráficos 2.a al 2.f.

Las cuatro líneas endocriadas de este trabajo final se sembraron en todas las Zonas de Producción, que se extendieron en un amplio rango geográfico y ecológico; abarcaron desde los 30,98° hasta los 37° Lat S y desde los - 57,6 ° hasta los -69,01 ° Long O. En toda su extensión y en las distintas fechas de siembra, el Genotipo 2 presentó los mayores niveles de reversión de la androesterilidad, % Rup.

%Ruptura respecto a fecha 50%Est:

Gráfico 2: Evolución del %Rup en función de la fecha del 50% Est para cada una de las ZProd para el Genotipo 2.



En las ZProd Núcleo y Valle de Uco la restauración de la fertilidad, o emisión de polen comenzó antes del momento del 50% Est (Gráficos 3.e y 3.f, respectivamente). En SEBA, SOBA y Córdoba Norte fue coincidente con la fecha del 50% Est, aunque en siembras de noviembre y diciembre, se registró entre el segundo y quinto día.

(Gráficos 3.a, 3.c y 3.d, respectivamente). En la ZProd de San Luis comenzó tres días después del 50% Est (Gráfico 3.b);

Rendimiento Bolsas ha⁻¹

En la Tabla 9 se presentó el rendimiento en Bolsas ha⁻¹ en las distintas ZProd y FS.

Tabla 9: Número de Bolsas ha⁻¹ producidas en cada Zona de Producción y Fecha de siembra

| Genotipo 2 | SEP2Q | OCT1Q | OCT2Q | NOV1Q | NOV2Q | DIC1Q | DIC2Q |
|----------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| CORDOBA NORTE | 154 | 145 | 139 | 134 | 132 | 132 | 133 |
| SAN LUIS | | 160 | 175 | 180 | 174 | 154 | |
| NUCLEO | 163 | 182 | 181 | 160 | 126 | 68 | |
| SEBA | | 148 | 163 | 168 | 161 | 141 | |
| SOBA | | 154 | 181 | 191 | 181 | 148 | |
| VALLE DE UCO | | 152 | 148 | 145 | 144 | 145 | |

En las ZProd de San Luis, SOBA y Núcleo rindió 176, 184 y 182 Bolsas ha⁻¹ respectivamente. Estos rendimientos promedios, se registraron para las fechas de siembra de la segunda quincena de octubre y las de todo el mes de noviembre para San Luis y SOBA, aunque solo para las de octubre en la zona Núcleo.

Las ZProd con menor potencial para este Genotipo fueron Córdoba Norte y Valle de Uco en todo el período de siembra (138 y 147 Bolsas ha⁻¹, respectivamente). En la ZProd SEBA rindió 164 Bolsas ha⁻¹ en las siembras de la segunda quincena de octubre y durante todo noviembre.

El Genotipo 2 mostró:

El mayor rendimiento promedio en Bolsas ha^{-1} y expresó los mayores porcentajes de Rupturas de este experimento.

En la ZProd Núcleo rindió 182 Bolsas ha^{-1} en las siembras de Octubre; la emisión de polen se produjo después del 50% Est.

En SOBA rindió 184 Bolsas ha^{-1} en la segunda quincena de octubre y durante todo el mes de noviembre, cuando la emisión de polen fue posterior a la fecha de 50%Est.

En SEBA, durante la segunda quincena de octubre y durante todo el mes de noviembre presentó elevados %Rup, entre el 40 y 70% con rendimientos de 164 Bolsas ha^{-1} . La emisión de polen se produjo coincidentemente ó después a la fecha de 50% Est (Gráfico 2.a).

En Córdoba Norte presentó rendimientos por debajo de los objetivos de producción del híbrido (Tabla 9). La emisión de polen en todas las fechas de siembra coincidió o fue posterior a la fecha de 50% Est.

En Valle de Uco los rendimientos fueron por debajo de los objetivos de producción del híbrido en toda la ventana de siembra y comenzó a emitir polen antes de la fecha del 50% Est. No se recomienda su siembra en Córdoba Norte y en Valle de Uco en ninguna fecha de siembra.

En San Luis, el rendimiento fue 169 Bolsas ha^{-1} en promedio; se podría sembrar desde octubre hasta diciembre y comenzó a emitir polen tres días después del 50% Est (Gráfico 2.b).

Este Genotipo con citoplasma C revirtió la androesterilidad en todas las ZProd y en todas las épocas de siembra ya que emitió polen; su comportamiento estuvo altamente influenciado por los ambientes propiciados por el gradiente latitudinal y como consecuencia, climático.

Por lo tanto, su utilización como progenitor femenino de un híbrido implicará necesariamente realizar una labor de despanojado mecánico. De acuerdo a la relación mostrada en los Gráficos 2.a a 2.f, entre los %Rup y los días desde respecto a 50% Est,

se pudo sugerir un manejo diferencial para la remoción de las panojas. Se propuso que cuando la emisión de polen se registre antes de la fecha del 50% Est, el momento de despanojado deberá anticiparse al máximo para minimizar el riesgo de disminución de la pureza genética de la semilla híbrida. Se deberá buscar una mayor eficiencia de extracción de las panojas en la labor y es posible que la disminución del área foliar por remoción de las hojas superiores de la planta y próximas a la panoja sea mayor. Por el contrario, si la emisión de polen fuera coincidente o posterior a la fecha del 50% Est, la panoja habrá elongado más, estará más exerta y el momento de remoción de las panojas podría ser posterior, logrando su extracción panojas se realice minimizando la remoción del área foliar. Quedan así planteadas dos estrategias distintas para el momento de despanojado.

Cualquiera fuese la estrategia de remoción de panojas, se ingresará con personal a repasar manualmente la labor, con el objetivo de extraer las inflorescencias completas y/o sus partes que no se hubieran extraído previamente en el lote.

Analizando la mejor localización para la producción de semilla híbrida con esta línea femenina y su rendimiento, se propone optimizar su utilización en las fechas de siembra de la segunda quincena de octubre en las ZProd Núcleo, San Luis y SOBA. Aunque G2 tiene citoplasma androestéril C, la proporción de restauración tiene consecuencias para el manejo productivo a campo. Si bien se observó presencia de polen, el intervalo entre la antesis y la emisión de estigmas de G2 facilitará la organización operativa y el ingreso al lote de la maquinaria y del personal.

Genotipo 3:

En la Tabla 10 se presentan las fechas para 50% Est y los %Rup Máx. en las seis ZProd y sus FS.

Tabla 10 - Genotipo 3: Fechas al 50% Est y valores promedio de %Rup Máx para todas las ZProd y FS.

| MATERIAL | ZProd | FECHA DE SIEMBRA | 50%EST | % Rup Max |
|--------------------|---------------|--------------------|------------|-----------|
| GENOTIPO 3 | SEBA | OCT1Q-(07/10/2019) | 17/1/2020 | 2 |
| | | OCT2Q-(31/10/2019) | 25/1/2020 | 8 |
| | | NOV2Q-(18/11/2019) | 6/2/2020 | 13 |
| | | DEC1Q-(03/12/2019) | 19/2/2020 | 2 |
| | SAN LUIS | OCT1Q-(14/10/2019) | 30/12/2019 | 0 |
| | | NOV1Q-(04/11/2019) | 11/1/2020 | 0 |
| | | NOV2Q-(26/11/2019) | 29/1/2020 | 0 |
| | | DEC1Q-(10/12/2019) | 10/2/2020 | 0 |
| | SOBA | OCT1Q-(10/10/2019) | 23/1/2020 | 0 |
| | | OCT2Q-(29/10/2019) | 29/1/2020 | 0 |
| | | NOV2Q-(20/11/2019) | 12/2/2020 | 0 |
| | | DEC1Q-(04/12/2019) | 22/2/2020 | 0 |
| | CORDOBA NORTE | SEP2Q-(20/09/2019) | 16/12/2019 | 1 |
| | | OCT2Q-(19/10/2019) | 30/12/2019 | 0 |
| | | NOV2Q-(24/11/2019) | 27/1/2020 | 2 |
| | | DEC2Q-(19/12/2019) | 18/2/2020 | 0 |
| | NUCLEO | SEP2Q-(23/09/2019) | 19/12/2019 | 3 |
| | | OCT2Q-(26/10/2019) | 6/1/2020 | 4 |
| | | NOV2Q-(23/11/2019) | 3/2/2020 | 0 |
| | VALLE DE UCO | OCT1Q-(13/10/2019) | 7/1/2020 | 0 |
| NOV1Q-(08/11/2019) | | 23/1/2020 | 0 | |
| NOV2Q-(28/11/2019) | | 9/2/2020 | 2 | |

El Genotipo 3 tuvo, en promedio, los menores %Rup Máx= 1,7% en todas las FS y las ZProd. El mayor %Rup Máx, 6,25 fue en SEBA.

Tabla 11- Anva para el Número de plantas con ruptura -% Rup- para el Genotipo 3 y su significado

| F.V. | gl | CM | F | p-valor |
|------------|----|-------|-------|---------|
| Modelo | 21 | 23,21 | 14,31 | <0,0001 |
| FS | 3 | 27,54 | 16,99 | <0,0001 |
| ZProd | 5 | 48,16 | 29,71 | <0,0001 |
| FS * ZProd | 13 | 12,61 | 7,78 | <0,0001 |
| Error | 44 | 1,62 | | |

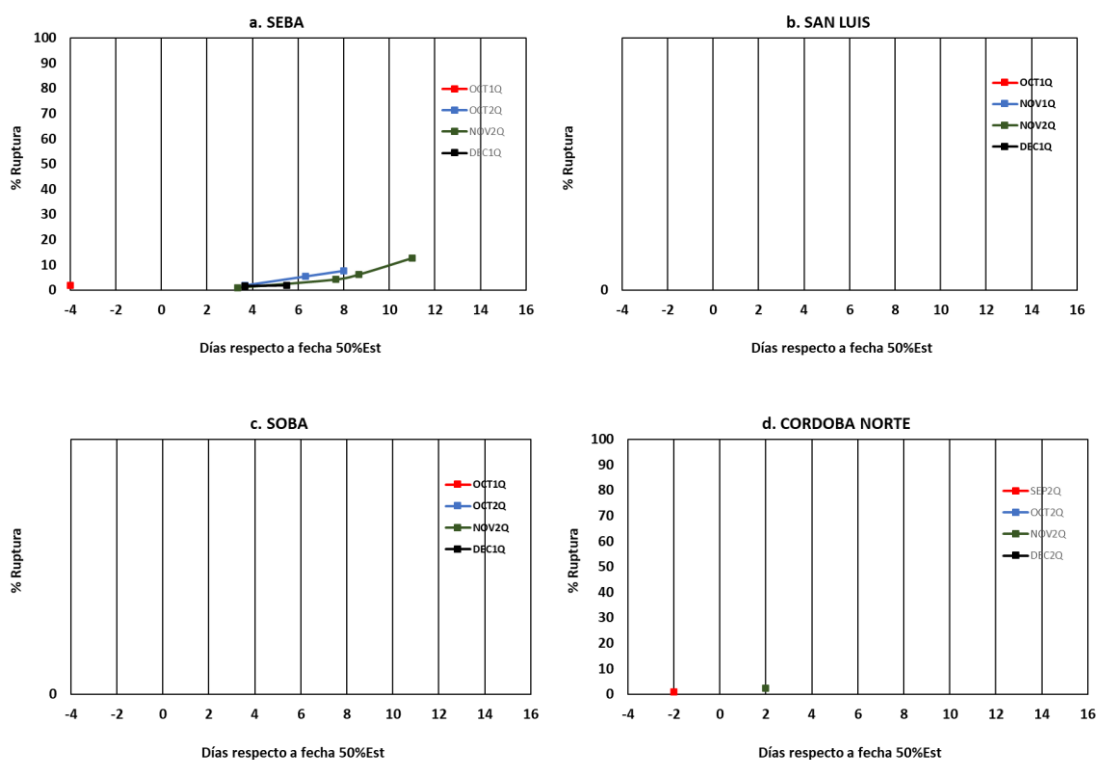
Tabla 12 - Anva para 50% Est para el Genotipo 3 y su significado

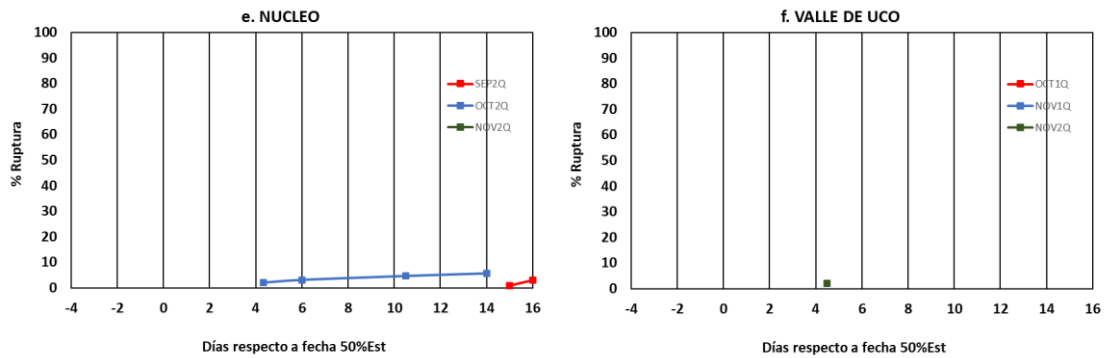
| F.V. | gl | CM | F | p-valor |
|------------|----|--------|-------|---------|
| Modelo | 21 | 65,25 | 17,79 | <0,0001 |
| FS | 3 | 32,80 | 8,95 | 0,0001 |
| ZProd | 5 | 144,21 | 39,33 | <0,0001 |
| FS * ZProd | 13 | 42,37 | 11,55 | <0,0001 |
| Error | 44 | 3,67 | | |

Los análisis de variancia de las Tablas 11 y 12 mostraron que, para ambas variables, se detectaron interacciones significativas entre las FS y las ZProd ($F= 7,78$ y $F=11,55$; $p< 0,0001$). De la misma manera que para los Genotipos 1 y 2, para el Genotipo 3 también se representó la duración de la protandria, como la evolución del %Rup en relación con los días al 50%Est.

%Ruptura respecto a fecha 50%Est:

Gráfico 3: Evolución del % Ruptura en función de la fecha del 50% Estigmas para cada una de las Zonas de Producción para el Genotipo 3.





Interpretando la Tabla 10 y los Gráficos 3.b y 3.c, pudo observarse que en las ZProd San Luis y SOBA no se encontraron plantas con panojas que expresaran restauración en ninguna de las FS. En Córdoba Norte y Valle de Uco el porcentaje máximo de panojas emitiendo polen fue del 2%. En otras ZProd, como SEBA y Núcleo se registraron como máximo entre el 13 y 4 % de panojas emitiendo polen, respectivamente.

Respecto al momento de reversión de la androesterilidad citoplasmática en este G3, en las ZProd SEBA, Núcleo y Valle de Uco se expresó una mayor duración de la protandria; las plantas que revirtieron la androesterilidad del citoplasma S se detectaron tres días después del 50 % Est en todas las fechas de siembra de este experimento (Gráficos 3.a,3.e y 3.f). En Córdoba Norte, sólo se registró el 2% de plantas con reversión entre los dos días previos y posteriores al 50%Est.

Rendimiento Bolsas ha⁻¹

En la Tabla 13 se presentó el rendimiento en Bolsas ha⁻¹ en las distintas ZProd y FS.

Tabla 13: Número de Bolsas ha⁻¹ producidas en cada Zona de Producción y Fecha de siembra

| Genotipo 3 | SEP2Q | OCT1Q | OCT2Q | NOV1Q | NOV2Q | DIC1Q | DIC2Q |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| CORDOBA NORTE | 120 | 143 | 154 | 156 | 148 | 129 | 103 |
| SAN LUIS | | 145 | 134 | 126 | 122 | 123 | |
| NUCLEO | 179 | 157 | 143 | 131 | 126 | 127 | |
| SEBA | | 151 | 152 | 146 | 135 | 117 | |
| SOBA | | 136 | 159 | 170 | 166 | 145 | |
| VALLE DE UCO | | 94 | 119 | 115 | 83 | 16 | |

El Genotipo 3 rindió, en promedio entre 130 y 155 Bolsas ha⁻¹ en las zonas de producción de San Luis y SOBA, respectivamente. En Valle de Uco rindió en promedio 85 Bolsas ha⁻¹ durante toda la ventana posible de siembra; fue la zona de producción con menor potencial de rendimiento a pesar de no haberse encontrado anteras emitiendo polen.

En Córdoba Norte y SOBA se promediaron 153 y 165 Bolsas ha⁻¹ en la segunda quincena de octubre y todas las siembras de noviembre. En Núcleo se obtuvieron 160 Bolsas ha⁻¹ promedio en las siembras de la segunda quincena de setiembre y las de octubre. En SEBA se obtuvieron, en promedio, 150 Bolsas ha⁻¹ durante las siembras correspondientes a octubre y primera quincena de noviembre. En San Luis la producción en promedio fue de 140 Bolsas ha⁻¹ durante el mes de octubre.

El Genotipo 3 mostró:

Los menores porcentajes de plantas que mostraron reversión de la androesterilidad y que emitieron polen en todas las fechas de siembra en este experimento; posiblemente el citoplasma S tenga un comportamiento más estable frente a las distintas condiciones ambientales de este experimento.

En las ZProd San Luis y Núcleo, la mejor performance se obtuvo en las siembras tempranas; para el caso de la ZProd Córdoba Norte la ventana comprendida durante las siembras de los meses de octubre y noviembre presentó los mejores resultados. Respecto a la ZProd SEBA y SOBA, los meses de octubre y noviembre fueron también los que permitieron explorar al máximo el potencial de rendimiento de este parental femenino.

La utilización de este Genotipo 3 como progenitor femenino para la producción comercial de semilla híbrida no requerirá de labores especiales, ya que el citoplasma S mantuvo la expresión androestéril. Se detectaron algunas pocas plantas que revirtieron aunque los mayores porcentajes oscilaron entre 2,33% y 6,25%.

En cualquiera de las Zonas de Producción el abordaje a campo para utilizar el G3 en la producción de semilla híbrida consistiría en garantizar la provisión de polen del progenitor masculino, incrementando la densidad de siembra para lograr la mayor cantidad de panojas por m² y/o adecuando la relación de siembra a campo entre los progenitores femeninos y masculinos, por ejemplo 75:25 ú 80:20.

Considerando la elevada expresión de su potencial de rendimiento en cinco de las seis ZProd y a excepción de las siembras de diciembre, con el uso de G3 se pueden diversificar tanto las regiones productivas como la ventana de siembra. Esta planificación, esencial para la producción de semillas, minimiza los riesgos de producción, diversificando las áreas y asumiendo menores riesgos climáticos durante la producción de semillas. La combinación entre las fechas de siembra y las diferentes ZProd permitirá combinar estrategias dentro y entre las zonas de producción con el objetivo de proveer a las plantas de procesamiento de un flujo lo más continuo posible de espigas para procesar, asegurando la producción de semilla híbrida para poder cumplir con las necesidades de la demanda.

Genotipo 4:

En la Tabla 14 se presentan las fechas para 50% Est y los %Rup Máx. en las seis ZProd y sus FS.

Tabla 14-Fechas al 50% Estigmas y valores promedio de %Rup Máx para todas las ZProd y FS

| MATERIAL | ZProd | FECHA DE SIEMBRA | 50%EST | % Rup Max |
|--------------------|---------------|-------------------------|---------------|------------------|
| GENOTIPO 4 | SEBA | OCT1Q-(07/10/2019) | 17/1/2020 | 4 |
| | | OCT2Q-(31/10/2019) | 25/1/2020 | 13 |
| | | NOV2Q-(18/11/2019) | 6/2/2020 | 21 |
| | | DEC1Q-(03/12/2019) | 19/2/2020 | 4 |
| | SAN LUIS | OCT1Q-(14/10/2019) | 30/12/2019 | 0 |
| | | NOV1Q-(04/11/2019) | 11/1/2020 | 0 |
| | | NOV2Q-(26/11/2019) | 29/1/2020 | 0 |
| | | DEC1Q-(10/12/2019) | 10/2/2020 | 0 |
| | SOBA | OCT1Q-(10/10/2019) | 23/1/2020 | 0 |
| | | OCT2Q-(29/10/2019) | 29/1/2020 | 0 |
| | | NOV2Q-(20/11/2019) | 12/2/2020 | 0 |
| | | DEC1Q-(04/12/2019) | 22/2/2020 | 0 |
| | CORDOBA NORTE | SEP2Q-(20/09/2019) | 16/12/2019 | 7 |
| | | OCT2Q-(19/10/2019) | 30/12/2019 | 0 |
| | | NOV2Q-(24/11/2019) | 27/1/2020 | 1 |
| | | DEC2Q-(19/12/2019) | 18/2/2020 | 0 |
| | NUCLEO | SEP2Q-(23/09/2019) | 19/12/2019 | 20 |
| | | OCT2Q-(26/10/2019) | 6/1/2020 | 11 |
| | | NOV2Q-(23/11/2019) | 3/2/2020 | 2 |
| | VALLE DE UCO | OCT1Q-(13/10/2019) | 7/1/2020 | 1 |
| NOV1Q-(08/11/2019) | | 23/1/2020 | 0 | |
| NOV2Q-(28/11/2019) | | 9/2/2020 | 8 | |

La expresión de la androesterilidad fue muy estable en San Luis y SOBA, con % Rup Máx nulos e inferiores al 10% en Valle de Uco y en Córdoba Norte. Para el caso de las ZProd SEBA y Núcleo los %Rup Máx alcanzaron hasta el 20%.

Tabla 15- Anva para el Número de plantas con ruptura -% Rup- para el Genotipo 4 y su significado

| <u>F.V.</u> | <u>gl</u> | <u>CM</u> | <u>F</u> | <u>p-valor</u> |
|-------------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 21 | 116,08 | 6,59 | <0,0001 |
| FS | 3 | 64,62 | 3,67 | 0,0191 |
| ZProd | 5 | 238,45 | 13,54 | <0,0001 |
| FS * ZProd | 13 | 80,88 | 4,59 | 0,0001 |
| Error | 44 | 17,61 | | |

Tabla 16- Anva para el 50% Est para el Genotipo 4 y su significado.

| <u>F.V.</u> | <u>gl</u> | <u>CM</u> | <u>F</u> | <u>p-valor</u> |
|-------------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 21 | 77,51 | 6,41 | <0,0001 |
| FS | 3 | 54,75 | 4,53 | 0,0075 |
| ZProd | 5 | 199,40 | 16,49 | <0,0001 |
| FS*ZProd | 13 | 35,89 | 2,97 | 0,0035 |
| Error | 44 | 12,09 | | |

Las distintas FS tuvieron interacción significativa con las ZProd para %Rup y 50% Est (F=4,59 y F=2,97; p=0,001 y P=0,0035, respectivamente), lo que dificultó identificar las mejores combinaciones. De la misma manera que para los genotipos anteriores, en el Gráfico 4 se representó la evolución del %Rup en relación con los días al 50% Est.

%Ruptura respecto a fecha 50%Est:

Gráfico 4: Evolución del % Rup en función de la fecha del 50% Est para cada una de las ZProd para el Genotipo 4.



En Córdoba Norte y Valle de Uco la restauración de la androesterilidad citoplasmática fue menor al 8%; se propuso disminuir el riesgo de contaminación del lote de la misma manera que para el G3, proveyendo suficiente cantidad de polen deseable, para evitar cualquier tipo de contaminación. Una planta de maíz produce enormes cantidades de polen (Uribelarrea et al., 2002; Westgate et al., 2003) pero sólo el 5% de esta cantidad poliniza sus propios estigmas (Poelhmann y Sleper, 1995). Los granos de polen del tipo de citoplasma S degeneran en el estadio uninucleado, mientras que los del citoplasma

C lo hacen en fase de microspora vacuolada. (Prazeres de Souza et al., 2021). Por tanto, una adecuada relación y densidad de siembra del progenitor masculino, asegurará volumen de polen para fecundar exitosamente al parental femenino y producir semilla híbrida con 100% de calidad genética sin necesidad de realizar la remoción mecánica de panojas ya que en las ZProd SEBA, Córdoba Norte, Núcleo y Valle de Uco la emisión de polen no superó el 20% y fue posterior al 50 % Est.

En las ZProd Núcleo y SEBA donde los valores de %Rup demandan necesariamente la extracción de las panojas, la emisión de estigmas diferida con respecto del 50 % Est constituye una condición operativa muy ventajosa para realizar un manejo racional y efectivo de la remoción mecánica de las panojas, sin arriesgar la pureza genética de la semilla híbrida a producir.

Rendimiento -Bolsas ha⁻¹

En la Tabla 17 se presentó el rendimiento en Bolsas ha⁻¹ en las distintas ZProd y FS.

Tabla 17: Número de Bolsas ha⁻¹ producidas en cada Zona de Producción y Fecha de siembra

| Genotipo 4 | SEP2Q | OCT1Q | OCT2Q | NOV1Q | NOV2Q | DIC1Q | DIC2Q |
|----------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| CORDOBA NORTE | 132 | 139 | 141 | 141 | 138 | 131 | 122 |
| SAN LUIS | | 137 | 158 | 158 | 139 | 96 | |
| NUCLEO | 155 | 151 | 140 | 119 | 93 | 56 | |
| SEBA | | 173 | 168 | 159 | 148 | 131 | |
| SOBA | | 155 | 167 | 166 | 154 | 126 | |
| VALLE DE UCO | | 63 | 74 | 79 | 77 | 67 | |

El genotipo 4 mostró:

Elevados rendimientos promedio en las fechas de siembra de setiembre y octubre en todas las ZProd, a excepción de Valle de Uco (Tabla 17). El rendimiento en Valle de Uco fue el más bajo de todo el ensayo: 72 Bolsas ha⁻¹.

La producción en Córdoba Norte, San Luis y SOBA podría realizarse disponiendo de todo el gradiente de fechas de siembras en estas ZProd, mientras que en la zona Núcleo y en SEBA se condicionará a fechas de siembra más tempranas ya que fechas más tardías registraron emisión de polen. Los rendimientos disminuyeron además en tanto se atrasaron las FS en la ZProd Núcleo.

Tabla 18: Valores promedios para %Rup Máx para las distintas ZProd.

| ZProd | GENOTIPO 1 | GENOTIPO 2 | GENOTIPO 3 | GENOTIPO 4 |
|---------------|------------|------------|------------|------------|
| CORDOBA NORTE | 13,75 | 73,00 | 0,75 | 2,00 |
| SAN LUIS | 1,75 | 85,00 | 0,00 | 0,00 |
| NUCLEO | 36,33 | 81,00 | 2,33 | 11,00 |
| SEBA | 38,00 | 51,50 | 6,25 | 1,50 |
| SOBA | 11,50 | 62,20 | 0,00 | 0,00 |
| VALLE DE UCO | 45,33 | 93,00 | 0,66 | 3,00 |

En la Tabla 18 se resumieron los valores promedios de los %Rup Máx. Los Genotipos 1 y 2 tuvieron los mayores valores de %Rup Máx. Mientras que el Genotipo 1 no superó el 50% RupMáx en ninguna ZProd, el Genotipo 2 sí lo superó en todas las ZProd. Los Genotipos 3 y 4 restauraron menos del 11% en todas las ZProd. Esta información permitió describir y agrupar, preliminarmente, la dinámica temporal de la expresión de la androesterilidad y su reversión en los cuatro genotipos estudiados. La mayor emisión de polen expresada por los Genotipos 1 y 2 podría ser como consecuencia de

impactos ambientales aunque Weider et al., (2009) al estudiar 22 genotipos en 17 ambientes no lograron establecer correlaciones entre las influencias climáticas relevadas en 8 variables ambientales sobre la expresión de la restauración de la fertilidad en genotipos androestériles de maíz. El análisis del comportamiento de las cuatro líneas endocriadas permitió sugerir dos estrategias diferentes de manejo y remoción del polen propio de cada línea femenina en los lotes de producción de semilla híbrida, basadas en los resultados experimentales y en que los granos de polen del citoplasma S se diferencian en el estadio uninucleado después que los del citoplasma C en fase de microspora vacuolada. De forma generalizada, los G1 y G2 requerirían la remoción mecánica de sus panojas mientras que durante la producción de semilla híbrida con los G3 y G4 como parentales femeninos la labor de despanojado podría sustituirse por intervenciones agronómicas con manejo de la relación y densidad de siembra del parental masculino.

El estudio detallado de la dinámica temporal de la expresión de la androesterilidad de estos cuatro genotipos progenitores femeninos asociados al análisis de las cantidades de Bolsas ha^{-1} producidas, permitieron adjudicar localizaciones y fechas de siembras óptimas de para la producción de semilla híbrida con elevados estándares de calidad y de pureza genética. Por estas razones, y atento a la necesidad de identificar zonas de producción con mayores potenciales de rendimiento, se sugirieron las siguientes estrategias para los cuatro genotipos, a saber:

Genotipo 1, a utilizarse como progenitor femenino en San Luis durante todo el período de siembra y en SOBA concentrado en siembras de octubre y noviembre, sin remoción de las panojas ya que a pesar de la elevada emisión de polen, el momento, posterior al 50 % Est permite realizar el despanojado con elongación del pedúnculo, minimizando el riesgo y la potencial disminución del rendimiento por remoción del área foliar.

Genotipo 2, a utilizarse como progenitor femenino en San Luis y SOBA en siembras de octubre y noviembre, y en Núcleo en siembras de octubre para combinar el mayor rendimiento y la expresión de la mayor duración de la protandria. Su obligatorio despanojado después del 50% Est se hará con el pedúnculo de la panoja casi completamente elongado, minimizando el riesgo y la potencial disminución del rendimiento por remoción del área foliar. Obregon et al., (1969) y Espinosa-Calderon

et al., (1998) demostraron que los mayores rendimientos se obtuvieron cuando la planta no perdía la panoja ni sus hojas mientras que los menores resultados se expresaban cuando había pérdida del mayor número de hojas.

Genotipo 3, a localizarse como progenitor femenino en las ZProd Núcleo en siembras tempranas así como en Córdoba Norte y SOBA en siembras de octubre y noviembre para potenciar la expresión de los mayores rendimientos y la estabilidad de la androesterilidad.

Genotipo 4, presentó una producibilidad menos limitada que los otros genotipos; puede localizarse preferentemente como progenitor femenino en las ZProd de San Luis, SOBA y Córdoba Norte durante toda la ventana de siembra, cuando expresó su mayor rendimiento y comportamiento androestéril estable.

CONCLUSIONES

La respuesta de un genotipo a distintos ambientes es multivariante y generó diferentes respuestas. Cada uno de los cuatro genotipos, líneas endocriadas con androesterilidad citoplasmática C y S, y en particular los citoplasmas C y S expresaron en distinto grado la restauración de la fertilidad. Los distintos grados de %Rup oscilaron entre 0 y 93% entre las seis Zonas de Producción en siembras comprendidas el período entre septiembre y diciembre. Estos resultados demostraron que existieron diferencias en la androesterilidad producida por los citoplasmas C y S. La expresión de la androesterilidad citoplasmática C y S fue distinta, no se comportaron de la misma manera, ni en los backgrounds genotípicos ni entre los ambientes. La plasticidad ecológica expresada por cada genotipo y por cada fuente de androesterilidad citoplasmática permitió identificar variaciones según las Zonas de Producción y las Fechas de Siembra, diferenciando el comportamiento de las fuentes de androesterilidad citoplasmáticas en dos grupos, en forma coincidente con los citoplasmas C y S, mostrando S mayor estabilidad.

El relevamiento de los momentos calendarios tanto de la emisión de polen como del 50%Est y el estudio de la relación entre ellos permitió definir estrategias de manejo diferentes, que se pueden agrupar según las fuentes citoplasmáticas y para cada uno de los genotipos, con el objetivo de minimizar al máximo el riesgo de calidad genética del lote. El establecimiento de dos estrategias de manejo de la producción de semilla híbrida -con y sin actividades de despanojamiento – según los citoplasmas C y S respectivamente sumado a la correcta localización de los genotipos en las diferentes ZProd y FS, impactarán de manera directa sobre los costos de producción que tendrán visibilidad en el resultado financiero final.

La identificación de fechas de siembra más apropiadas para maximizar rendimientos en el gradiente latitudinal y longitudinal estudiado, permitirá, junto con las estrategias de manejo asociadas a las dos fuentes de androesterilidad citoplasmática, suministrar secuencialmente las espigas híbridas a las plantas de procesamiento, propendiendo al aprovisionamiento continuo para su mayor fluidez y eficiencia.

El comportamiento de estos genotipos permitirá producir semilla híbrida escalonada en el tiempo y distribuida geográficamente lo que minimizará riesgos productivos, y

climáticos, apuntando a cumplir con las estimaciones de inventario presupuestado, sin mayores desviaciones ocasionadas por el sobre o sub-dimensionamiento. El uso eficiente de los recursos durante la producción y procesamiento debido al adecuado balance que optimice la evaluación de riesgos hará más sustentable y socialmente responsable la producción de semilla híbrida de calidad máxima.

BIBLIOGRAFIA

Bassetti, P. y M.E. Westgate, 1994. Floral asynchrony and kernel set in maize quantified by image analysis. *Agron. J.*, 86:699:703.

Beck, D. L., 2002. Management of Hybrid Maize Seed Production. CIMMYT. Disponible en: <http://repository.cimmyt.org/xmlui/bitstream/handle/183/3778/95795.pdf>

Budar, F., P. Touzet y R. De Paepe, 2003. The nucleo-mitochondrial conflict in cytoplasmic male sterilities revisited. *Genetica*, 117, 3-16.

Chase, C.D. y S. Gabay-Laughnan, 2004. Cytoplasmic male sterility and fertility restoration by genes. In H. Daniell & C.D. Chase (Eds.), *Molecular biology and biotechnology of plant organelles* (pp. 593-622)

Chase C.D., 2005. Genetically engineered cytoplasmic male sterility. *Trends Plant Sci. Jan*;11(1):7-9. doi: 10.1016/j.tplants.Epub2005 Dec 13. PMID: 16356756.

Espinosa Calderon, A., J. Ortiz Cereceres, A. Ramirez Fonseca, N.O. Gomez Montiel y A. Martinez Garza, 1998. Stability and behavior of maize lines per se and crosses in seed production. Págs. 27-36. *Agricultura Técnica en Mexico* (Mexico).

Di Rienzo J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada y C.W. Robledo, *InfoStat versión 2020- Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina*. URL: <http://www.infostat.com.ar>.

Fonseca, A.E., M.E. Westgate, L. Grass y D.L. Dornbos Jr, 2003. Tassel morphology as an indicator of potential pollen production in maize. In 2003 Plant Management Network. <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/cm/research/2003>

Hayes, H. K. 1952. Development of the heterosis concept. *Heterosis*, 49-65. DE Instituto Nacional de Semillas, INASE, 2022.

https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/inase_produccion_nacional_2021.pdf

Laser, K.D. y N.R. Lersten, 1972. Anatomy and Cytology of Microsporogenesis in Cytoplasmic Male Sterile Angiosperms. *The Botanical Review*, 38, 425-454.

Lizaso, J.I., M.E. Westgate, W.D. Batchelor y A. Fonseca, 2003. Predicting potential kernel set in maize from simple flowering characteristics. *Crop.Sci.*, 43: 892-903.

Ma, L.B., K.D. Subedi y L.M. Reid, 2004. Extend of cross-fertilization in maize by pollen from neighboring transgenic hybrids. *Crop Sci.* 44: 1273-1282.

Mackenzie, S; 2004. The influence of mitochondrial genetics in crop breeding strategies. *Plant Breed. Rev.* 25, 115–138.

Ritchie, S. W., J.J. Hanway y G.O. Benson, 1982. How a corn plant develops. Iowa State University of Science and Technology. Cooperative Extension Service Ames, Iowa. Special Report, (48).

Prazeres de Souza, I.R., M.J. V. de Vasconcelos, A. Goncalves de Souza filho y M. de Oliveira Pinto, 2021. Microsporogênese, microgametogênese e identificação molecular dos tipos de citoplasmas macho-estéreis C e S em milho. <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1136531>

Pohelman, J.M; 1984. *Breeding field crops* 3rd ed. Ames: Iowa State University Press, 680p.

Sangoi, L. y R.J. Salvador, 1998. Effect of maize detasseling on grain yield tolerance to high plant density and drought stress. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.33, n.5, p.677-684, 1998b.

Schnable, P. S. y R.P. Wise, 1998. The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration. *Trends in Plant Science*, 3(5), 175-180.

Schooper, J.B., R.L.Lambert y B.L. Vasilas, 1987. Pollen viability, pollen shedding, and combining ability for tassel hot tolerance in maize.

Shull, G.H. 1909. A pure line method of corn breeding. *Am. Breeder's Assoc. Rep.*, 5:51–59.

Stamp P., S. Chowchong, M. Menzi, U. Weingartner y O. Kaeser, 2000. Increase in the yield of cytoplasmic male sterile maize revisited. *Crop Sci.* 40:1586-1587.

Obregon P y J.M. Maneiro, 1969. Influencia de la pérdida de hojas en el despanojado sobre el rendimiento del maíz. *Agronomía Tropical.* 1969;19(3):205-210.

Westgate, M.E., J.I. Lizaso y W. Batchelor, 2003. Quantitative relationship between pollen- shed density and grain yield in maize. *Crop Sci.* 43: 934-942.

<https://apps.fas.usda.gov>, acc2022).

Uribelarrea, M., J. Cárcova, M.E. Otegui y M.E. Westgate, 2002. Pollen Production, Pollination Dynamics, and Kernel Set in Maize. *Crop Sci.*, 42: 1910-1918. <https://doi.org/10.2135/cropsci2002.1910>

Weider, C., P. Stamp, N. Christov, A. Hüskén, X. Foueillassar, K.H. Camp y M. Munsch, 2009. Stability of cytoplasmic Male Sterility in Maize under Different Environmental Conditions, *Crop Sci* 49:1, pp77-84 <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.12.0694>

ANEXOS

Gráfico 5: Evolución de las condiciones climáticas en cada una de las ZProd.

