

## CARACTERIZACIÓN DE VARIEDADES DE MAÍZ MEDIANTE $^{15}\text{N}$ COMO MARCADOR EN TRES ETAPAS FENOLÓGICAS

### CHARACTERIZATION OF MAIZE CULTIVARS USING $^{15}\text{N}$ AS MARKER AT THREE PHENOLOGICAL STAGES

Rubén Bayardo-Parra<sup>1\*</sup>, María Remedios Cigales-Rivero<sup>1</sup>, José Gonzalo Lorenzana-Salazar<sup>1</sup> y Segundo Urquiaga<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro Universitario de Investigación y Desarrollo Agropecuario, Universidad de Colima. A.P. 22, Colima, México. <sup>2</sup> Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiología, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Seropédica, Río de Janeiro, Brasil

\*Autor para correspondencia (r1bayardo@uacol.mx)

#### RESUMEN

El maíz (*Zea mays* L.) posee una amplia base genética como resultado de los múltiples procesos de selección, adaptación y manejo. Una característica importante de los genotipos es su patrón de distribución del nitrógeno derivado del fertilizante (Nddf). En este trabajo se estudió la distribución de Nddf de dos variedades de maíz, mediante el isótopo  $^{15}\text{N}$  como marcador. Los resultados mostraron que la distribución del nitrógeno en la planta varió con la época de aplicación del fertilizante. Cuando la aplicación se hizo en la etapa de emergencia de la segunda hoja y en la de inicio de la floración masculina, las variedades mostraron diferencias significativas, pero no así cuando se aplicó en la siembra.

**Palabras clave:** *Zea mays*, genotipos,  $^{15}\text{N}$ , nitrógeno derivado del fertilizante.

#### SUMMARY

Maize (*Zea mays* L.) has a wide genetic variation as a result of multiple selection, adaptation and management processes. An important characteristic of the genotypes is the nitrogen distribution pattern of nitrogen derived from fertilizer (Nddf). In this work the Nddf distribution using  $^{15}\text{N}$  as a marker was studied in two cultivars. Results showed that the nitrogen distribution in the plant, followed different patterns according to supply date of marked fertilizer. When the application was carried out at the time of emergence of the second leaf and at the starting of tasseling, the cultivars showed significant differences in the distribution pattern, while for the application at sowing both genotypes had similar patterns.

**Index words:** *Zea mays*, genotypes,  $^{15}\text{N}$ , nitrogen derived from fertilizer

## INTRODUCCIÓN

La base genética del maíz (*Zea mays* L.) ha sido ampliada con los múltiples procesos de selección, adaptación y manejo; la variabilidad genética es resultado de la interacción genotipo x ambiente físico y biótico en el proceso evolutivo y de selección practicada por los agricultores. Un factor determinante de la diversidad genética es el manejo de los cultivos en los diferentes agroecosistemas y unidades de producción, en los que pueden variar las densidades de población, fechas de siembra, dosis y épocas de fertilización y riego, que interaccionan fuertemente con el genotipo (Turrent *et al.*, 2005).

Turrent *et al.* (2005) enfatizan la necesidad de adquirir conocimientos básicos sobre el papel del genotipo y sus interacciones con los factores controlables (manejo) y no controlables (clima) de la producción. Estas interacciones han sido evaluadas con base en caracteres agronómicos, fenológicos y fisiológicos, como: días a floración masculina y femenina, rendimiento de grano, y altura de planta y de mazorca (Caraballoso *et al.*, 2000); longitud y diámetro de mazorca, número de hileras por mazorca, rendimiento de grano, índice de grano y sanidad de mazorca (Ortega *et al.*, 1991; Hernández y Esquivel, 2004). Según Bertin y Gallais (2000), una parte de la variabilidad genéticamente controlada de *Zea mays* posiblemente se deba a genes y alelos aún no identificados que confieren la capacidad de adaptarse a factores abióticos, así como diferencias en la absorción y utilización de nutrientes por la planta.

Se ha mostrado que los mismos materiales genéticos varían en sus respuestas al manejo, localidad y fertilización nitrogenada, lo que se atribuye al papel activo del genotipo (Helyar, 1998). La variabilidad genética del maíz, en cuanto a la eficiencia de uso del nitrógeno (EUN), ha servido para seleccionar variedades y optimizar el uso de los fertilizantes nitrogenados (Moll *et al.*, 1982; Moll *et al.*, 1987). Se ha encontrado que la variabilidad genética para EUN en las plantas, es influenciada por factores como: cantidad de nitrógeno disponible en el suelo (Gislum y Griffith, 2004), tasa de crecimiento y regulación interna de la planta (Gastal y Lemaire, 2002; Ashraf y Hussain, 2005). Al respecto, se ha evidenciado la importancia de caracterizar el patrón de distribución del nitrógeno derivado del fertilizante (Nddf), porque este carácter permite evaluar el impacto del N removilizado en la producción de grano o follaje (Ma y Dwyer, 1998), así como la distribución del nitrógeno en una etapa fenológica (Paponov y Engels, 2005).

El isótopo  $^{15}\text{N}$  es un marcador que permite determinar el destino del Nddf y evaluar el efecto de manejo de fertilización sobre el patrón de distribución, pero estos estudios no se han hecho en México para caracterizar variedades de maíz locales. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la distribución y el uso del Nddf aplicado en dos variedades de maíz y en tres etapas del cultivo, al utilizar  $^{15}\text{N}$  como marcador.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se estableció en 1993 en condiciones de temporal o secano durante el ciclo agrícola verano-otoño, en Cuauhtémoc, Colima. La temperatura media anual fue de 28 °C, con precipitación anual de 1250 mm y altitud de 1220 m. El suelo se clasifica como cambisol húmico, con 8 % de arcilla, 33 % de limo y 59 % de arena, con pendiente de 15 % y pH 5.6.

Los tratamientos consistieron en dos genotipos de ciclos biológicos diferentes, a los que se aplicó el fertilizante marcado  $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  en tres etapas fenológicas del cultivo y el factor órgano con ocho niveles. Las variedades fueron 'Obregón' (G1) de ciclo corto, 96 d y 'Urapeño' (G2) de ciclo largo, 110 d. Las etapas fenológicas fueron: siembra (E1), emergencia de la segunda hoja (E2) e inicio de la floración masculina (E3). El diseño experimental fue bloques al azar con arreglo factorial (dos genotipos x tres etapas fenológicas x ocho órganos) y cuatro repeticiones. La parcela experimental consistió de seis surcos de 4.4 m de largo y 0.82 m de ancho; el fertilizante marcado se aplicó en 3.8 m de los dos surcos centrales, en su parte media.

El  $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  tenía 10.87 % de enriquecimiento de  $^{15}\text{N}$  o a.e. (átomos en exceso) mas la abundancia natural y se aplicó en dosis única de 33.3 kg ha<sup>-1</sup> en cada etapa fenológica. La fórmula final de fertilización para todos los tratamientos fue: 100-60-60; N-P-K, que se completó con sulfato de amonio no marcado, superfosfato de calcio triple y cloruro de potasio. Todos los fertilizantes se aplicaron en la siembra a lo largo y en el fondo del surco, cerca de las semillas de maíz, y se cubrieron con una capa de tierra de aproximadamente de 1 cm de espesor.

Se aclaró a dos plantas/mata, a una distancia de 40 cm. La maleza se controló con una aplicación de Gramoxone ® a 1 L ha<sup>-1</sup> y 1.5 L ha<sup>-1</sup> de Gesaprim 50 ®, más dos desyerbes manuales con azadón.

Para las mediciones de N se muestrearon las ocho matas centrales, en cada surco, para un total de 16 plantas/parcela. Para determinar la concentración de  $^{15}\text{N}$  a.e., de cada variedad se tomaron muestras en la etapa de ma-

durez fisiológica, en los ocho órganos siguientes: parte inferior del tallo (TI), parte superior del tallo (TS), hoja inferior (HI), hoja superior (HS), espata (ES), espiga (E), raquis (R), y grano (G), en donde hubo nudo de la mazorca inferior se consideró como punto de división de las partes superior e inferior. Las muestras se pesaron en fresco; luego se secaron en estufa a 65 °C durante 72 h; se registró el peso de materia seca y después se molieron por separado. La concentración de  $^{15}\text{N}$  a.e. de cada órgano se determinó a partir de un extracto resultante del análisis de nitrógeno total de las muestras, por medio de un espectrómetro NOI6 EPC perteneciente al Departamento de Aplicaciones Nucleares de la Dirección General de Tecnología Nuclear de Uruguay. La distribución del nitrógeno entre órganos se determinó mediante el porcentaje de nitrógeno derivado del fertilizante (%Nddf), con las ecuaciones del Manual del Organismo Internacional de Energía Atómica (Zapata, 1990).

$$\% \text{ Nddf} = \frac{\% ^{15}\text{N a.e. en muestra vegetal}}{\% ^{15}\text{N a.e. en el fertilizante marcado}}$$

Las diferencias estadísticas debidas a efectos de variedad, órgano y etapa de aplicación del fertilizante marcado, se determinaron mediante análisis de varianza y pruebas de Tukey ( $P < 0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza mostró que las etapas fenológicas en las que se aplicó el fertilizante marcado con  $^{15}\text{N}$ , tuvieron un efecto estadísticamente significativo ( $P \leq 0.0013$ ) en la distribución de N en los órganos de la planta (Cuadro 1). En espárrago (*Asparagus officinalis*) Ledgard *et al.* (1992) también observaron que la cantidad de nitrógeno marcado recuperado depende de la etapa fenológica de aplicación. En sorgo (*Shorghum bicolor* L. Moench) se encontró que la mejor época de aplicación de N fue a la siembra (Peña-Cabriales *et al.*, 2002) y que hay diferencias significativas en el porcentaje de  $^{15}\text{N}$  a.e. debidas a la época de aplicación, en tallos y hojas (Espinosa *et al.*, 2002). En contraste, en cebada (*Hordeum vulgare* L.), Otegui *et al.* (2002) no detectaron diferencias en el contenido de Nddf en el grano, al aplicar sulfato de amonio marcado en cuatro etapas.

En maíz son escasos los estudios acerca del efecto de la etapa de aplicación del fertilizante marcado con  $^{15}\text{N}$ , sobre la distribución en la planta. Subedi y Ma (2005) encontraron que el tiempo de aplicación tuvo influencia significativa en la absorción, removilización y distribución de  $^{15}\text{N}$  a.e. en la planta. Estos resultados coinciden con lo encontrado en este trabajo.

Las interacciones etapa fenológica x órgano, etapa fenológica x genotipo y etapa fenológica x órgano x genotipo, fueron significativas (Cuadro 1). Los patrones de distribución del N en las dos variedades y en las tres etapas fenológicas (Figura 1) demuestran la utilidad de la variable %Nddf para diferenciar genotipos en su interacción con etapas y órganos.

*Cuadro 1. Análisis de varianza de la variable porcentaje de nitrógeno derivado del fertilizante (%Nddf), en dos genotipos de maíz bajo aplicación de fertilizante marcado con  $^{15}\text{N}$ , en tres etapas fenológicas del cultivo: 1) Siembra; 2) Emergencia de segunda hoja y 3) Inicio de floración masculina, determinado en ocho órganos de la planta.*

F.V.	GL	SC	CM	Fc	Pr > F
Genotipo (G)	1	1.7	1.7	0.32	0.5716
Etapas (E)	2	72.7	36.3	6.92	0.0013*
Órgano (O)	7	41.1	5.9	1.12	0.3548
G x E	2	268.8	134.4	25.61	0.0001*
G x O	7	19.8	2.8	0.54	0.8044
E x O	14	730.5	52.2	9.94	0.0001*
G x E x O	14	224.6	16.0	3.06	0.0004*
Error	144	755.7	5.3		
Total	191	224.6			
CV (%)		17.2			

GL = Grados de libertad; SC = Suma de cuadrados; CM = Cuadrados Medios; Fc = F calculada; CV = Coeficiente de variación. \* Significancia a 0.05 de probabilidad de error.

La aplicación de  $^{15}\text{N}$  en la siembra (E1) no provocó diferencias significativas en el %Nddf en el total de la planta completa, en ninguna de las dos variedades. Los valores máximos fluctuaron entre 13.8 y 13.9 %, y los valores mínimos entre 11.8 y 11.4 %, para ‘Obregón’ y ‘Urapeño’ (Figura 1a). Los patrones de distribución resultantes de las aplicaciones de fertilizante marcado en las etapas de emergencia de la segunda hoja (E2) e inicio de floración (E3), mostraron diferencias significativas entre las variedades ‘Obregón’ y ‘Urapeño’. En E2 las diferencias se localizaron en la espiga y la espata (Figura 1b); y en la etapa E3 en el tallo superior, hoja superior y espiga (Figura 1c), lo que indica que es en estos órganos donde las diferencias genotípicas se expresan. En E3, la variedad ‘Obregón’, de ciclo corto, acumuló %Nddf en mayor proporción en la espiga con 18.7 % y en la espata con 14.8 %, mientras que la variedad ‘Urapeño’ acumuló en la espiga 12.6 % y en la espata 9.4 %. Estos resultados coinciden con los de Subedi y Ma (2005), quienes al evaluar tres híbridos de maíz encontraron efecto significativo de la etapa de aplicación del fertilizante en la proporción de Nddf encontrado en cada órgano, y por ello resultaron patrones de distribución distintos entre híbridos.

En la etapa E3 se observó que la variedad ‘Urapeño’ acumuló 6.4, 3.7, 8.9 % más de %Nddf en tallo y hojas superiores y espiga, respectivamente, que la variedad ‘Obregón’, diferencias genéticas que se atribuyen a diferencias en la eficiencia de uso del nitrógeno, como ha señalado por Moll *et al.* (1982, 1987). Es posible que estas

características propias de cada variedad hayan sido adquiridas en los ambientes en las que fueron seleccionadas las variedades. La variedad ‘Obregón’ posee adaptación a ambientes de precipitación baja y corta duración mientras que la variedad ‘Urapeño’ fue seleccionada para ambientes con mayor precipitación y distribuida en periodos más largos. Lo anterior muestra la relación del genotipo con el manejo de la fertilización y de sus diferentes necesidades nutrimentales en las fases fenológicas durante el ciclo de cultivo, y muestra que la expresión de los genotipos está estrechamente relacionada con las prácticas de manejo (Turrent *et al.*, 2005). No obstante, es necesario confirmar la mejor etapa fenológica de aplicación del fertilizante marcado con  $^{15}\text{N}$  para optimizar su uso en trabajos de caracterización de genotipos de maíz.

## CONCLUSIONES

El uso de fertilizante marcado con  $^{15}\text{N}$  es útil para establecer patrones de distribución del nitrógeno derivado del fertilizante dentro de las plantas de maíz. La distribución del nitrógeno en los órganos de la planta está relacionada con la etapa fenológica de aplicación.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento y asesoría proporcionado por el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA), Proyecto Méx. 05/019 y por la realización de los análisis de  $^{15}\text{N}$  al Ing. Raúl Goyenola, Jefe del Departamento de Aplicaciones Agrícolas de la Dirección Nacional de Tecnología Nuclear, Uruguay.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ashraf M, F Hussain (2005) Dry matter and nitrogen distribution at maturity of three rice (*Oryza saliva* L.) cultivars exposed to ammonia at two growth stages. *J. Agron. Crop Sci.* 191:125-129.
- Bertin P, A Gallais (2000) Physiological and genetic basis of nitrogen use efficiency in maize. I: Agrophysiological results. *Maydica* 45:53-66.
- Caraballos T V, A Mejia C, S Valderrama C, A Carballo C, F V González C (2000) Divergencia en poblaciones de maíz nativas de valles altos de México. *Agrociencia* 34:167-174.
- Espinosa F J, E Carrillo Á, D J Palma-López, J J Peña-Cabriaes, S Salgado García (2002) Eficiencia de la fertilización nitrogenada en sorgo con la técnica isotópica  $^{15}\text{N}$ , en un vertisol con drenaje subsuperficial. *Terra* 20:129-139.
- Gastal F, G Lemaire (2002) N uptake and distribution in crops: an agronomical and ecophysiological perspective. *J. Exp. Bot.* 53:789-799.
- Gislum R, S M Griffith (2004) Tiller production and development in perennial ryegrass in relation to nitrogen use. *J. Plant Nutr.* 27:2135-2148.
- Helyar K R (1998) Efficiency of nutrient utilization and sustaining soil fertility with particular referente to phosphorus. *Field Crops Res.* 56:187-195.

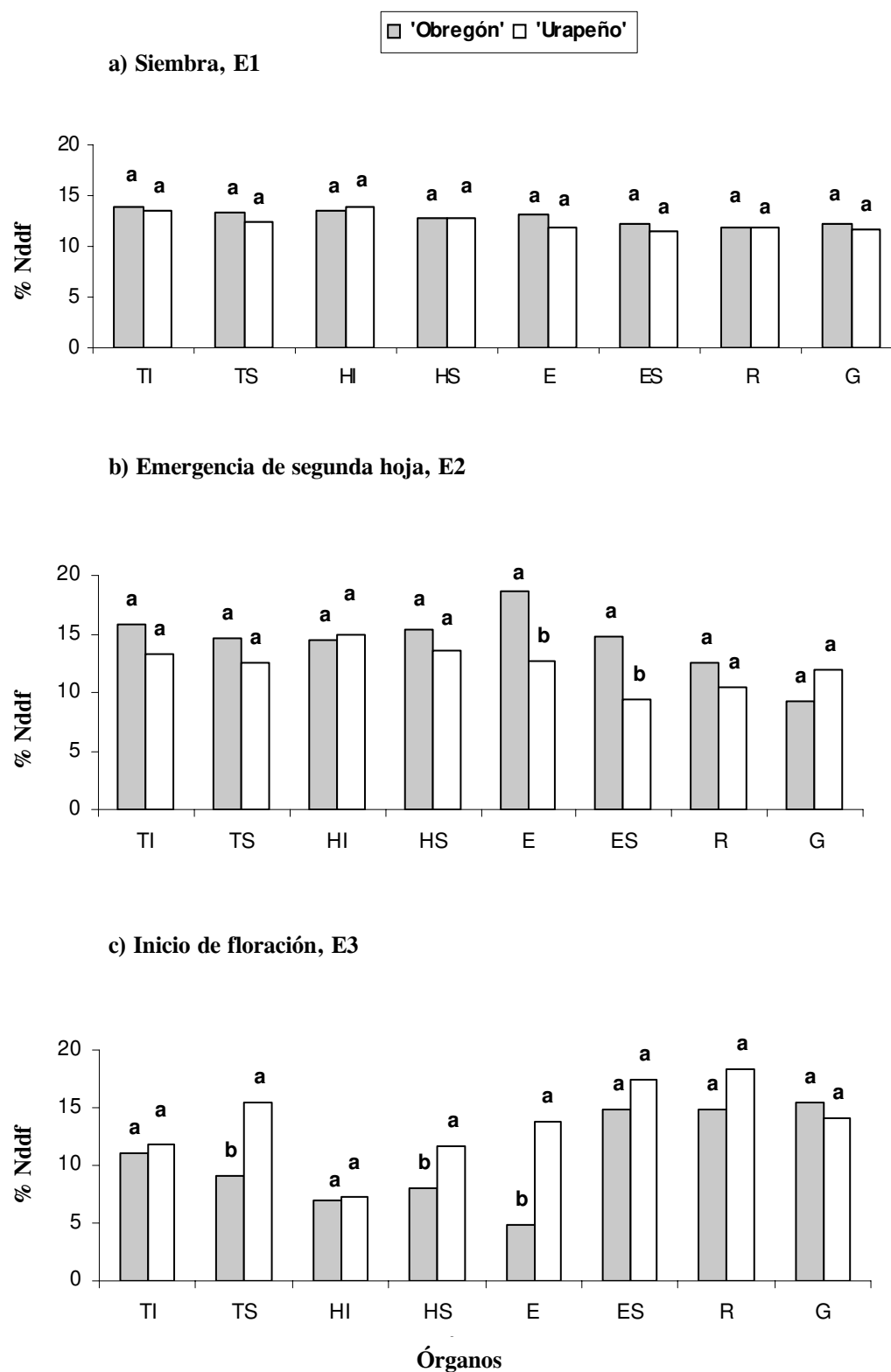


Figura 1. Porcentaje de Nitrógeno derivado del fertilizante (%Nddf) en ocho órganos (TI=Parte inferior del tallo; TS=parte superior del tallo; HI= Hoja inferior; HS= Hoja superior; E=espiga; ES=Espata; R=Caquis; G=Grano) comparando dos genotipos ('Obregón' y 'Urapeño') aplicado en tres etapas fenológicas (E1, E2 y E3). Medias de órgano con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05).

- Hernández C J M, G Esquivel E (2004) Rendimiento de grano y características agronómicas en germoplasma de maíz en valles altos de México. *Rev. Fitotec. Mex.* 27:27-31.
- Ledgard S F, J A Douglas, J M Follet, M S Sprosen (1992) Influence of time of application on the utilization of nitrogen fertilizer by asparagus, estimated using  $^{15}\text{N}$ . *Plant and Soil* 147:41-47.
- Ma B L, L M Dwyer (1998) Stem-infused nitrogen  $^{15}\text{N}$  enrichment for evaluation of nitrogen use in maize. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 29:2459-2470.
- Moll R H, E J Kamprath, W A Jackson (1982) Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. *Agron. J.* 74:562-564.
- Moll R H, E J Kamprath, W A Jackson (1987) Development of nitrogen efficient prolific hybrids of maize. *Crop Sci.* 27:181-186.
- Ortega P R, J J Sánchez G, F Castillo G, V González H, J M Hernández C (1991) Estado actual de los estudios sobre los maíces nativos de México. *In: Avances en el Estudio de los Recursos Fitogenéticos de México.* R Ortega P, G. Palomino H, F Castillo G, M. Livera M (eds). Sociedad Mexicana de Fitogenética, Chapingo, Méx. pp:161-185.
- Otegui O, J Zamalvide, C Perdomo, R Goyenola y A Cerveñanasky (2002) Momento de aplicación de nitrógeno: efecto en eficiencia de uso del fertilizante, rendimiento y concentración proteica en grano de cebada cervecera en Uruguay. *Terra* 20:71-80.
- Paponov I A, C Engels (2005) Effect of nitrogen supply on carbon and nitrogen partitioning after flowering in maize. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 168:447-453.
- Peña-Cabriaes J J, A O Grageda-Cabrera, J A Vera-Núñez (2002) Manejo de fertilizantes nitrogenados en México: Uso de técnicas isotópicas ( $^{15}\text{N}$ ). *Terra* 20:51-56.
- Subedi K D, B L Ma (2005) Effects of N-deficiency and timing of N supply on the recovery and distribution of labeled N-15 in contrasting maize hybrids. *Plant and Soil* 273:189-202.
- Turrent-Fernández A, R J Laird, J I Cortés F, A Barrios A (2005) Revisiting agroecosystem productivity: II. Validity for adapting technology to maize in México. *Agrociencia* 39:149-159.
- Zapata F (1990) Técnicas isotópicas en estudios sobre la fertilidad del suelo y la nutrición de las plantas. *In: Empleo de Técnicas Nucleares en los Estudios de la Relación Suelo-Planta.* G Hardarson (ed). Colección de Cursos de Capacitación No. 2. Organismo Internacional de Energía Atómica. Viena, Austria. pp:79-171.