

**EFFECTOS INDIVIDUALES Y CONJUNTOS DE LA TEMPERATURA Y LA
RADIACIÓN SOLAR INTERCEPTADA SOBRE EL PESO Y LA CALIDAD DE
GRANOS Y ACEITE DE HÍBRIDOS DE GIRASOL.**

Estudio experimental y modelado.

PATRICIA NORMA ANGELONI

**Tesis presentada como requisito para optar al grado de
DOCTOR DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE EN EL AREA
DE RECURSOS NATURALES**

**DOCTORADO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE EN EL
AREA DE EN RECURSOS NATURALES**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE**

**Corrientes
República Argentina
2019**

**EFFECTOS INDIVIDUALES Y CONJUNTOS DE LA TEMPERATURA Y LA
RADIACIÓN SOLAR INTERCEPTADA SOBRE EL PESO Y LA CALIDAD DE
GRANOS Y ACEITE DE HÍBRIDOS DE GIRASOL.**

Estudio experimental y modelado.

PATRICIA NORMA ANGELONI

DIRECTOR

Dr. LUIS AGUIRREZÁBAL

**Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata.
CONICET.**

CODIRECTORA

Dra. MARÍA MERCEDES ECHARTE

**Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata.
CONICET.**

*A mis hijas Camila y Julieta,
refugio de amor y luz, lo mejor de mi historia.*

AGRADECIMIENTOS

A las siguientes Instituciones por el apoyo brindado para la realización de esta tesis:

Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste

Cátedra de Fisiología Vegetal, FCA, UNNE.

Cátedra de Agroclimatología, FCA, UNNE.

Secretaría de Investigación y Posgrado, FCA, UNNE.

Departamento de Física y Química, FCA, UNNE.

Dirección de Posgrado, UNNE.

Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata.

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estaciones Experimentales

Agropecuarias Sáenz Peña, Balcarce y Paraná.

A mi Director y Codirectora, Dres. Luis Aguirrezábal y María Mercedes Echarte, por sus conocimientos, dedicación y compromiso y por confiar en mí.

A mi amada familia, que nunca desistió en el acompañamiento dándome gran apoyo emocional en los momentos difíciles.

A Gustavo por todo y por siempre.

Al Ing. Agr. Luis Mroginski, quien me dio la primera oportunidad en este camino y por estar.

A la Ing. Agr. Sara Vazquez por su comprensión y consejos.

A los Ings. Agrs. Gigi Arce, Carlos Caram, Analía Píccoli, Oscar Valentinuz y Alex Montenegro.

A todos mis amigos, compañeros y al personal de la FCA que se interesaron, colaboraron y me alentaron en este trabajo.

A mis amigos y compañeros de Balcarce y Mar del Plata.

ÍNDICE GENERAL

	Página
<i>Agradecimientos</i>	iv
<i>Índice general</i>	v
<i>Índice de figuras</i>	ix
<i>Índice de tablas</i>	xiv
<i>Índice de anexos</i>	xvi
<i>Resumen</i>	xviii
<i>Abstract</i>	xx
CAPÍTULO 1: Introducción general.....	1
1. <i>Introducción general.....</i>	2
1.1 Características generales de los aceites vegetales	4
1.2 Aceite de girasol.....	7
1.2.1 Biosíntesis de ácidos grasos.....	7
1.2.2 Salud y nutrición humana.....	8
1.2.3 Biocombustibles.....	9
1.3 Genotipos de girasol con diferente composición ácida potencial.....	10
1.4 Factores ambientales. Efecto sobre el peso y la calidad de granos y aceite de girasol	11
1.4.1 Efectos de la temperatura y la radiación solar interceptada sobre la calidad de aceite	12
1.4.2 Efectos de la temperatura y la radiación solar interceptada sobre el peso y el porcentaje de aceite	15
<i>Estructura de la tesis</i>	19
CAPÍTULO 2: Materiales y Métodos.....	20
2.1 <i>Variabilidad genética de la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna en híbridos de girasol alto oleico.....</i>	21
2.1.1 Descripción de los experimentos.....	21
2.1.2 Mediciones.....	24
2.1.3 Procesamiento de muestras y análisis químico.....	24
2.1.4 Análisis de datos.....	25
2.2 <i>Efecto conjunto de la temperatura y la radiación solar interceptada sobre la respuesta del peso y porcentaje de aceite de los granos.....</i>	26
2.2.1 Descripción de experimentos.....	26
2.2.1.1 Descripción de experimentos en el campo.....	26
2.2.1.2 Descripción de experimentos en cámaras de crecimiento.....	29
2.2.2 Mediciones.....	29

2.2.3 Procesamiento de muestras y análisis químico.....	30
2.2.4 Análisis de datos.....	31
<i>CAPÍTULO 3: Variabilidad genética de la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna en híbridos de girasol alto oleico.....</i>	<i>33</i>
3.1 INTRODUCCIÓN.....	34
3.2 RESULTADOS	35
3.2.1 Composición ácida del aceite de híbridos de girasol con composición ácida mejorada.	35
3.2.2 Efecto de la temperatura mínima nocturna sobre el porcentaje de ácido oleico de híbridos alto oleico.	36
3.2.2.1 Respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna para diferentes híbridos alto oleico.....	37
3.2.2.2 Variabilidad de la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna para híbridos alto oleico.....	39
3.2.2.3 Límites inferior y superior (t_{inf} y t_{sup}) del rango de alta respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna para híbridos alto oleico.....	42
3.2.3 Un meta-mecanismo como herramienta para identificar un bajo número de temperaturas para fenotipar la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna.....	46
3.3 DISCUSIÓN.....	47
3.4 CONCLUSIÓN.....	50
<i>CAPÍTULO 4: Efecto conjunto de la temperatura y la radiación solar interceptada sobre la respuesta del peso y porcentaje de aceite de los granos.....</i>	<i>51</i>
4.1 INTRODUCCIÓN.....	52
4.2 RESULTADOS.....	53
4.2.1. Temperatura.....	53
4.2.1.1 Experimentos en cámaras de crecimiento.....	53
4.2.1.1.1 Peso final de los granos.....	53
4.2.1.1.2 Porcentaje de aceite de los granos.....	55
4.2.1.1.3 Análisis de los parámetros de respuesta del peso de los granos y el porcentaje de aceite a la temperatura.....	55
4.2.1.2 Experimentos en el campo	56
4.2.1.2.1 Peso final de los granos.....	57
4.2.1.2.2 Porcentaje de aceite de los granos.....	58
4.2.2. Radiación solar interceptada	58

4.2.2.1 Efecto de la radiación solar interceptada sobre el peso final y el porcentaje de aceite de los granos.....	59
4.2.3 Análisis de la respuesta del peso final y porcentaje de aceite de los granos a la acción conjunta de la temperatura y la radiación solar interceptada por planta	63
4.2.3.1 ¿Los efectos de la temperatura están exclusivamente mediados por una menor acumulación de la RSI?	63
4.2.3.2 Efectos conjuntos de la temperatura y la radiación solar interceptada	66
4.3 DISCUSIÓN.....	69
Modelo bilineal para el efecto de la temperatura.....	69
Variabilidad genética de la respuesta a la temperatura.....	71
Efectos conjuntos de la temperatura y la radiación solar interceptada.....	72
4.4 CONCLUSIÓN.....	73
CAPÍTULO 5: Consideraciones finales.	74
5.1 RESPUESTA A LAS HIPÓTESIS PLANTEADAS.....	75
5.2 SIGNIFICADO DE LAS CONTRIBUCIONES DE ESTA TESIS.....	76
Aportes al conocimiento de los mecanismos y al modelado.	80
Aportes al mejoramiento genético y manejo.....	80
5.3 PERSPECTIVAS.....	83
BIBLIOGRAFÍA.....	85
ANEXOS.....	99

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.1 Estructura de los ácidos grasos presentes en aceite vegetales (Heldt y Piechulla, 2011).....	5
Figura 1.2 Composición en ácidos grasos característica de distintos aceites vegetales de cultivares tradicionales y con composición acídica modificada expresados en porcentaje del contenido total de ácidos grasos. (Fuente: http://www.codexalimentarius.org/ , CODEX STAN 19-2013. Standard for Edible Fats and Oils not Covered by Individual Standards).....	7
Figura 1.3 Representación esquemática de la síntesis de ácidos grasos en girasol (Tomado de Echarte et al., 2009). FAS I y FAS II: complejo ácido graso sintasa I y II respectivamente; SAD: estearoil-ACP desaturasa; FAD2: oleoil fosfatidilcolina desaturasa2.....	8
Figura 1.4 Representación esquemática del modelo sigmoideo utilizado para describir la relación entre el porcentaje de ácido oleico y la temperatura mínima nocturna durante el período 100-300°C ddf (Izquierdo y Aguirrezábal, 2008).....	13
Figura 3.1 Relación entre el porcentaje de los ácidos grasos esteárico, palmítico, oleico y linoleico con la temperatura mínima nocturna (período 100-300 °Cd df) para 17 cultivares alto oleico de girasol. Los datos corresponden a la Red Nacional de Evaluación de Cultivares Comerciales de Girasol del INTA (RNG).....	36
Figura 3.2 A: Boxplot del porcentaje de ácido oleico de diferentes híbridos alto oleico a través de ambientes. B: Porcentaje de ácido oleico de 17 híbridos alto oleico de girasol en la región girasolera de cultivo en Argentina. La línea continua representa el ajuste de la Ecuación 1 al conjunto de datos.....	37
Figura 3.3 Porcentaje de ácido oleico en función de la temperatura mínima nocturna (TMN) durante el período 100-300°Cd desde floración para 12 híbridos alto oleico. La línea continua representa la Ecuación 1 ajustada al conjunto de datos experimentales de cada uno de los híbridos que muestran curvas sigmoideas completas.....	38
Figura 3.4 Porcentaje de ácido oleico en función de la temperatura mínima nocturna (TMN) durante el período 100-300°Cd desde floración para 5 híbridos alto oleico. La línea continua representa la Ecuación 1 ajustada al conjunto de datos experimentales de cada híbrido aplicando una restricción al valor de y_0	39

Figura 3.5	Boxplot de los parámetros de la Ecuación 1 ajustada a los datos experimentales. Los parámetros $y_{\max}$ y $b_{\max}$ fueron calculados según Izquierdo y Aguirrezábal (2008). La línea punteada separa los parámetros obtenidos para curvas completas de aquellos de curvas incompletas.....	40
Figura 3.6	Rangos de alta respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna (100-300 °C ddf) definidos entre t_{inf} y t_{sup} en 12 híbridos alto oleico de girasol.	41
Figura 3.7	Relación entre el parámetro a (diferencia entre el máximo y el mínimo porcentaje de ácido oleico) y el parámetro y_0 (mínimo porcentaje de ácido oleico) correspondiente a las relaciones sigmoideas entre el porcentaje de ácido oleico y la temperatura mínima nocturna de 12 cultivares alto oleico.....	42
Figura 3.8	Diferencias entre $y_0 - y_0$ estimado a la t_{inf} promedio (A) y entre $y_{\max} - y_{\max}$ estimado a la t_{sup} promedio (B) para doce híbridos alto oleico.....	43
Figura 3.9	Valores teóricos de porcentaje de ácido oleico de los diferentes híbridos. Los híbridos fueron ordenados de acuerdo al valor medio de los datos simulados obtenidos con la Ec 1, de menor a mayor (línea continua). Los símbolos representan el porcentaje de ácido oleico estimado a diferentes temperaturas cada 0,5°C entre 14,0 y 20,5 °C. Inserto: Las líneas continuas representan el porcentaje medio de ácido oleico para: todos los datos (negra), a 19°C (verde), 15,5-20,0°C (azul) y 15,5-17,5-20,5 (roja).....	46
Figura 4.1	Peso de los granos (PG) en función de la temperatura media diaria (TM) para híbridos de girasol tradicionales (ACA885, DK3820 y DK3881) (Paneles A, B y C). Experimentos realizados en cámaras de crecimiento. Las barras verticales representan el desvío estándar de la media. El panel D muestra datos adaptados de Chimenti <i>et al.</i> (2001). La línea continua representa la Ecuación 2 ajustada a los datos experimentales.....	54
Figura 4.2	Porcentaje de aceite [A] (%) en función de la temperatura media diaria (TM) durante el llenado de los granos para híbridos de girasol tradicional (ACA885, DK3820 y DK3881). Experimentos realizados en cámaras de crecimiento. Las barras verticales representan el desvío estándar de la media. La línea continua representa la Ecuación 2 ajustada a los datos experimentales.....	55
Figura 4.3	Peso de los granos (PG) en función de la temperatura media diaria (TM) durante el llenado de los granos para híbridos de girasol tradicionales (ACA885, DK3820 y DK3881). Los símbolos negros corresponden a los tratamientos	57

	testigo de los experimentos a campo. La línea continua representa el ajuste de la Ecuación 2 a los datos obtenidos en experimentos en cámaras de crecimiento, las líneas punteadas representan los límites inferior y superior del intervalo de confianza (95%).....	
Figura 4.4	Porcentaje de aceite (A) en función de la temperatura media diaria (TM) durante el llenado de los granos para híbridos de girasol tradicionales (ACA885, DK3820 y DK3881). Los símbolos negros corresponden a los tratamientos testigo de los experimentos a campo. La línea continua representa el ajuste de la Ecuación 2 a los datos obtenidos en experimentos en cámaras de crecimiento, las líneas punteadas representan los límites inferior y superior del intervalo de confianza (95%).....	58
Figura 4.5	Peso final de los granos (PG) en función de la radiación solar interceptada por planta (RSI) acumulada en el período 250-450 °Cd df para híbridos tradicionales (ACA885 y DK3820) Los símbolos corresponden a los experimentos de campo en cada localidad y año. La línea continua representa la Ecuación 3 ajustada a los datos experimentales.....	62
Figura 4.6	Porcentaje de aceite A en función de la radiación solar interceptada por planta (RSI) acumulada en el período 250-450 °Cd df para híbridos tradicionales (ACA885 y DK3820). Los símbolos corresponden a los experimentos de campo en cada localidad y año. La línea continua representa la Ecuación 3 ajustada a los datos experimentales.....	62
Figura 4.7	Radiación solar interceptada acumulada durante el período 250-450°Cd df en función de la temperatura media para el tratamiento testigo en híbridos tradicionales (ACA885 y DK3820). Los símbolos corresponden a los experimentos de campo.....	63
Figura 4.8	Peso final de los granos (PG) y porcentaje de aceite A en función de la radiación solar interceptada por planta (RSI) acumulada en el período 250-450 °Cd df para híbridos tradicionales (ACA885 y DK3820). Los símbolos corresponden a los experimentos de campo en cada localidad y año. La línea continua representa la Ecuación 3 ajustada a los datos experimentales para la localidad de Balcarce (experimento B2).....	64
Figura 4.9	Valores de peso de grano (PG) y porcentaje de aceite [A] estimados en función de los valores observados para los híbridos ACA885 y DK3820. La línea punteada representa la bisectriz (relación 1:1). La línea continua representa la regresión lineal entre los datos estimados y observados. Los símbolos vacíos representan los valores estimados con el modelo RSI, los símbolos llenos los	66

valores estimados con el modelo RSI-TM.....

Figura 4.10 Valores de peso de grano (PG) y porcentaje de aceite (A) estimados en función de los valores observados para los híbridos ACA885 y DK3820. La línea punteada representa la bisectriz (relación 1:1). La línea continua representa la regresión lineal entre los datos estimados y observados. Los símbolos vacíos representan los valores estimados con el modelo RSI, los símbolos llenos los valores estimados con el modelo RSI-TM.....

68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1	Localidades e híbridos evaluados en la Red Nacional de Cultivares Comerciales de Girasol del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA-ASAGIR)	23
Tabla 2.2	Características de suelos de los sitios para experimentos realizados en Balcarce durante la campaña 2006-2007 (B1) y 2007–2008 (B2), en Paraná durante la campaña 2007–2008 (P) y en Sáenz Peña durante la campaña 2006-2007 (SP1) y 2007–2008(SP2).....	27
Tabla 2.3	Fecha de siembra (S), días a floración (R5.1) y a madurez fisiológica (MF) para para los híbridos ACA885 y DK3820 en los respectivos experimentos.....	28
Tabla 3.1	Regiones definidas según Hall et al. (2013) con sus correspondientes temperaturas mínimas nocturnas (100-300°Cd df). Porcentaje de híbridos alto oleico respecto de los 12 híbridos estudiados que alcanzan su mínimo y máximo porcentaje de ácido oleico.....	44
Tabla 3.2	Regiones y fechas de siembra de acuerdo a Pereyra-Irujo et al (2009) con sus correspondientes temperaturas mínimas nocturnas (TMN °C). Porcentaje de híbridos alto oleico respecto de los 12 híbridos estudiados que alcanzan su mínimo y máximo porcentaje de ácido oleico.....	45
Tabla 4.1	Parámetros de la Ecuación 2 ajustada para experimentos en cámaras de crecimiento. Valores de plateau correspondientes a peso de los granos, porcentaje de aceite para híbridos de girasol tradicional (ACA885, DK3820 y DK 3881).....	56
Tabla 4.2	Peso de grano, porcentaje de aceite y contenido de aceite por grano del híbrido tradicional ACA 885 para distintos tratamientos de radiación solar interceptada en los experimentos SP1, SP2, B1 y B2. Para cada variable y experimento valores seguidos de la misma letra no difieren según Tukey (0,05).....	60
Tabla 4.3	Peso de grano, porcentaje de aceite y contenido de aceite por grano del híbrido tradicional DK 3820 para distintos tratamientos de radiación solar interceptada en los experimentos SP1, SP2, B1 y B2. Para cada variable y experimento valores seguidos de la misma letra no difieren según Tukey (0,05).....	61
Tabla 4.4	Valores de AIC (Akaike's Information Criteria) y probabilidad de los modelos RSI y RSI-TM para los híbridos tradicionales (ACA885 y DK3820).....	69

ÍNDICE DE ANEXOS

Figura A.1	Peso final de los granos (PG) en función de la radiación solar interceptada por planta (RSI) acumulada en el período de llenado de granos para híbridos tradicionales (ACA885 y DK3820). Los símbolos corresponden a los experimentos de campo en cada localidad y año. La línea continua representa la Ecuación 5 ajustada a los datos experimentales.....	100
Figura A.2	Porcentaje de aceite ([A] (%)) en función de la radiación solar interceptada por planta (RSI) acumulada en el período de llenado de granos para híbridos tradicionales (ACA885 y DK3820). Los símbolos corresponden a los experimentos de campo en cada localidad y año. La línea continua representa la Ecuación 5 ajustada a los datos experimentales.	101

RESUMEN

El objetivo de esta tesis fue elucidar los efectos de la temperatura, la radiación solar interceptada y de sus efectos conjuntos, sobre el peso y la calidad de granos y aceites de diferentes genotipos de girasol. Con el modelo sigmoideo utilizado previamente en híbridos tradicionales y con experimentos realizados en el campo, en diferentes localidades y años, se demostró la variabilidad genética de la respuesta del porcentaje de ácido oleico de híbridos de girasol alto oleico a la temperatura mínima nocturna. Utilizando el mismo modelo se identificaron las temperaturas (individual y combinadas) que permitirían fenotipar la composición acídica de numerosos híbridos alto oleico de girasol.

En condiciones controladas se caracterizó un modelo bilineal de respuesta a la temperatura media para el peso y porcentaje de aceite de los granos de híbridos de girasol tradicionales. Con experimentos realizados en el campo se determinó que la temperatura ejerce su acción sobre la tasa de desarrollo acortando el período de llenado y disminuyendo la acumulación de radiación solar interceptada, pero además tiene una acción directa sobre el peso y porcentaje de aceite de los granos.

Palabras claves: girasol, aceite, temperatura, radiación solar interceptada, composición acídica, modeling, interacción entre factores ambientales.

ABSTRACT

The objective of this thesis was to elucidate the effects of temperature, intercepted solar radiation and their joint effects on the weight and quality of grains and oils of different genotypes of sunflower. The sigmoid model previously used in traditional hybrids in association with experiments performed in the field demonstrated that, in different locations and years, the genetic variability of the response of oleic acid percentage of high oleic sunflower hybrids is related to the minimum night temperature. Using the same model, the temperatures (individual and combined) were identified that would allow to phenotype the acidic composition of numerous high oleic sunflower hybrids.

Under controlled conditions, a bilinear model of medium temperature response was characterized for the weight and percentage of oil of the grains of traditional sunflower hybrids. Field experiments determined that temperature affects the rate of development indirectly by shortening the filling period and consequently decreasing the accumulation of intercepted solar radiation, and directly by reducing the weight and percentage of oil of the grains.

Key words: sunflower, oil, temperature, intercepted solar radiation, acidic composition, modeling, interaction between environmental factors.

CAPÍTULO 1
Introducción general

1. *Introducción general*

El girasol (*Helianthus annuus* L.) es uno de los cuatro cultivos oleaginosos más importantes a nivel mundial junto con la soja, la palma y la colza. La comercialización de su aceite representa alrededor del 80% de la producción mundial (Oil World, 2013). La República Argentina es el único país del Hemisferio Sur que participa de esta producción. En la campaña 2015/16 la producción total de Argentina fue de 3.000.367 tn con un rendimiento promedio de 2.121,96 kg/ha (SIIA, MAGyP, 2017). El 70 % de la producción nacional es exportada como aceite crudo y el 30% restante como aceite refinado, colocándose en el tercer lugar entre los países exportadores (CIARA-CEC, 2013).

Las regiones de la Argentina donde se cultiva girasol se extienden desde las provincias de Chaco (25°S) en el norte del país, hasta el sur de la provincia de Buenos Aires (40°S). En sentido este-oeste se lo puede cultivar hasta los 66°W (provincia de San Luis). En los últimos años la zona de cultivo de girasol se ha expandido, siendo las provincias de Chaco y Santa Fe las que mayor aporte han hecho al crecimiento de esta superficie (ASAGIR, 2012). La gran extensión del área cultivada hace que, durante su ciclo ontogénico, el girasol esté expuesto a un amplio rango de condiciones ambientales, hecho particularmente importante en la etapa del llenado de sus granos. Es durante esta etapa cuando el peso y la composición de los granos se definen, y, por lo tanto, el período de mayor sensibilidad de estos caracteres a las condiciones ambientales.

Las prácticas de manejo agronómico modifican el ambiente en el que crecen las plantas. En países extensos en latitud (por ejemplo, Argentina, Estados Unidos de América), el amplio rango de fechas de siembra en combinación con las diferentes regiones de cultivo genera una importante heterogeneidad de ambientes. Factores como la radiación solar interceptada por las plantas y la temperatura, varían según la latitud y la estación de crecimiento, influyendo en el crecimiento y desarrollo del cultivo aun cuando las condiciones hídricas y minerales son óptimas. Diversas investigaciones demostraron la importancia de las variaciones de la temperatura y la radiación solar interceptada sobre las variaciones del peso y la calidad de los granos (Dosio *et al.*, 2000; Izquierdo *et al.*, 2002; Aguirrezábal *et al.*, 2003) y la calidad del aceite (Izquierdo *et al.*, 2006; Izquierdo y Aguirrezábal, 2008; Echarte *et al.*, 2010; Aguirrezábal *et al.*, 2009).

El peso de los granos, su porcentaje de aceite y la composición ácida del aceite son componentes importantes que definen el rendimiento y la calidad del grano en girasol. El peso y la composición de los granos no sólo dependen de la temperatura y la radiación solar interceptada durante el llenado de los granos, sino que además se encuentran bajo control

genético y, por lo tanto, la interacción genotipo x ambiente (GxE) puede modificar el peso de los granos y su composición.

Además, distintos factores ambientales podrían presentar interacción al ejercer sus efectos o bien sus efectos conjuntos podrían ser aditivos o multiplicativos. Los efectos conjuntos de la temperatura y la radiación solar interceptada han sido de escaso interés no solo para los caracteres a investigar en esta tesis (porcentaje de ácido oleico, peso y porcentaje de aceite de los granos), sino para otros procesos y especies.

El objetivo general de esta tesis es elucidar los efectos de la temperatura, la radiación solar interceptada y de sus efectos conjuntos, sobre el peso y la calidad de granos y aceites de diferentes genotipos de girasol.

Identificar y cuantificar las respuestas del peso y la calidad de granos y aceites de diferentes genotipos de girasol a la temperatura y la radiación solar interceptada, como a sus efectos conjuntos, permitiría:

- a) conocer el fenotipo de los granos y aceites bajo cualquier condición de temperatura y radiación solar interceptada.
- b) seleccionar prácticas de manejo y zonas de cultivo a fin de obtener aceites con calidades diferenciadas;
- c) desarrollar distintas estrategias y herramientas de selección tendientes al mejoramiento del rendimiento y/o calidad (Andrade *et al.*, 2005; Aguirrezábal *et al.*, 2009);
- d) incorporar relaciones empíricas a los modelos de crecimiento y desarrollo de cultivos para predecir el rendimiento y la calidad antes de la cosecha o ante posibles cambios ambientales futuros (Echarte *et al.*, 2010);
- e) avanzar en el entendimiento de los mecanismos ecofisiológicos que gobiernan la respuesta del rendimiento y calidad a los factores ambientales durante el llenado de granos, especialmente sobre la manera que estos actúan de forma conjunta.

1.1 Características generales de los aceites vegetales

De las tres principales reservas alimenticias (lípidos, carbohidratos y proteínas) que poseen los vegetales, los lípidos constituyen la forma más eficiente de almacenar energía. Así, por ejemplo, la oxidación de los ácidos grasos durante la germinación de las semillas oleaginosas, libera más del doble de energía/por gramo de sustancia, que la oxidación de hidratos de carbono o proteínas de almacenamiento debido a su estado altamente reducido (Miquel y Browse, 1995).

Los componentes lipídicos de reserva mayoritarios en oleaginosas son los triglicéridos, formados por ácidos grasos unidos a una cadena principal de glicerol mediante uniones éster (97-98%: Velasco y Fernández-Martínez, 2002). Estos pueden ser simples, si están formados por 3 ácidos grasos iguales, o compuestos si tienen ácidos grasos diferentes. Estos lípidos se almacenan en estructuras subcelulares conocidas como cuerpos grasos (oleosomas). Los oleosomas están formados por una matriz hidrófoba de triglicéridos rodeada de una capa de fosfolípidos en la que se depositan proteínas (oleosinas, Huang, 1992). Las oleosinas (proteínas de la semimembrana del oleosoma) y los fosfolípidos les confieren estabilidad a los cuerpos grasos y los mantienen como entidades separadas (Mantese *et al.*, 2006).

La composición en ácidos grasos es uno de los dos caracteres generalmente considerados como objetivo de los programas de producción y mejoramiento de cultivos (Crupkin y Zambelli, 2008). La composición ácida es la principal determinante de la aptitud de los aceites vegetales para diferentes usos, y por esto la calidad del aceite se evalúa en términos del porcentaje relativo de cada ácido graso. El papel que desempeñan los lípidos en el desarrollo del organismo y en el mantenimiento de un adecuado nivel de salud, se estudia cada vez con mayor profundidad, (Hiroyasu, *et al.*, 2002; Wenting *et al.*, 2015). Su consumo se asocia con diferentes aspectos de la salud. En la nutrición humana tienen funciones de carácter metabólico y/o estructural. Los aspectos de calidad de los aceites comestibles exhiben buenas características organolépticas y nutricionales, alta estabilidad a la oxidación y funcionalidad. Estas características son determinadas por su composición química.

Los ácidos grasos, son ácidos carboxílicos de cadena hidrocarbonada generalmente lineal y de diferente número par de átomos de carbono. Se clasifican según la longitud de la cadena carbonada y la cantidad y posición de los dobles enlaces en ella. Los ácidos grasos saturados (SFA), sólo tienen enlaces simples entre los átomos de carbono; los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA), poseen un doble enlace en su cadena y los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), poseen dos o más dobles enlaces (Lehninger, *et al.*, 1993). En la

mayoría de los aceites de origen vegetal (girasol, soja, maíz, colza) predominan los ácidos grasos MUFA y PUFA (> 85% de la composición) (Fig 1.1)¹.

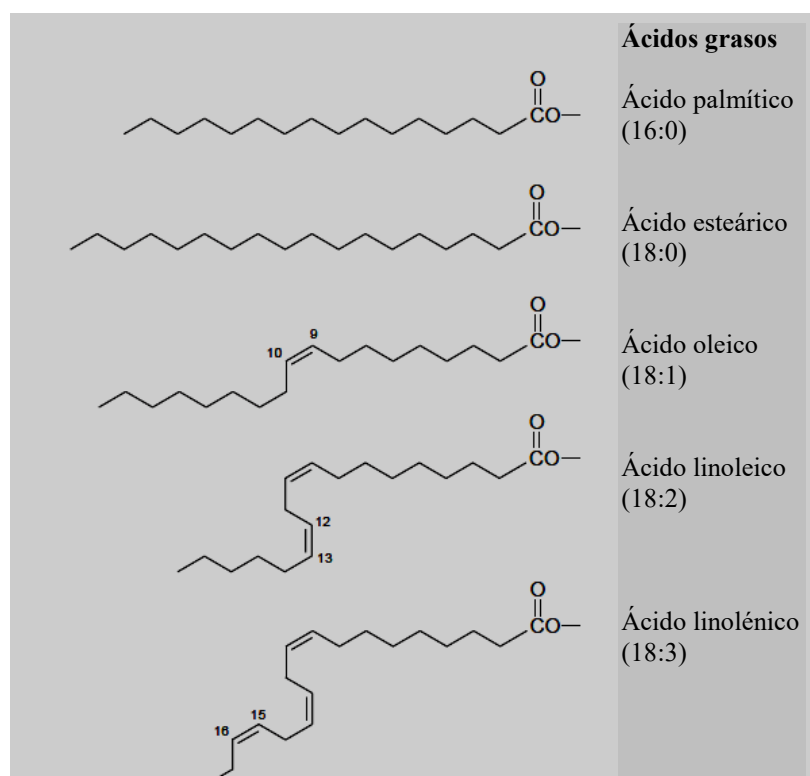


Figura 1.1 Estructura de los ácidos grasos presentes en aceite vegetales (Heldt y Piechulla, 2011).

Los SFA son aptos para la fabricación de mantecas, margarinas y productos para untar, ya que son sólidos a temperatura ambiente. Además, como no poseen insaturaciones en su molécula, son más estables que los ácidos monoinsaturados y poliinsaturados, por ser resistentes a la autoxidación. Dicha estabilidad es importante para la vida útil de los alimentos envasados y retarda el enranciamiento del aceite para frituras.

¹ El sistema de la IUPAC (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada, 1978), nombra a los ácidos grasos sobre la base del número de átomos de carbono y el número y posición de los dobles enlaces en relación al grupo carboxilo. Por ejemplo, el ácido oleico presenta una notación abreviada C18:1, en la que C representa el número de átomos de carbono (18) seguido del número de dobles enlaces en la cadena (1). La notación ω -x hace referencia a la posición del doble enlace que se encuentra más cercano al extremo metilo de la molécula. A este sistema se lo conoce también como omega, por lo que es frecuente el uso de los términos omega-3, omega-6 y omega-9 para denominar algunos ácidos grasos.

El MUFA más abundante en la dieta occidental es el ácido oleico (C18:1 ω -9). Sin embargo, en algunas poblaciones el MUFA más abundante en la dieta es el ácido erúcico (C22:1) (FAO, 2012), que se encuentra, por ejemplo, en los aceites culinarios derivados de las semillas de algunas especies de Brassica, tales como la colza y la mostaza. Se han desarrollado cultivares de colza con bajo porcentaje de este ácido graso en su aceite para consumo humano (Velasco, *et al.*, 1999) ya que es un ácido graso perjudicial para la salud, puesto que provocaría afecciones cardíacas y retraso en el crecimiento, así como afecciones a las glándulas suprarrenales y el hígado.

Los PUFA más abundantes son el ácido linoleico (C18:2 ω -6) y el ácido linolénico (C18:3 ω -3). Son líquidos a temperatura ambiente e inestables durante el almacenamiento y en frituras. El mayor número de insaturaciones presentes en los ácidos PUFA hace que estos aceites tengan una alta sensibilidad a la oxidación, produciendo el enranciamiento rápido del aceite.

Los dobles enlaces de ácidos grasos insaturados en aceites vegetales son mayoritariamente de orientación *cis*. Los ácidos grasos *trans* (TFA) se encuentran en derivados de aceites vegetales parcialmente hidrogenados. Éstos últimos son obtenidos por saturación parcial de los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados mediante incorporación de hidrógeno en la doble ligadura. En este proceso un aceite líquido pasa de semi-fluido a sólido. Con el fin de reducir la ingesta de ácidos grasos *trans* y así reducir los factores de riesgo, se han desarrollado diversos productos alimentarios bajo la denominación «libre de grasas *trans*», lo que indica un nivel de TFA inferior al 1 % en la fase lipídica (Eckel *et al.*, 2007). Una alternativa posible al consumo de TFA son las variedades que contienen aceites alto esteáricos (>18% de ácido esteárico), ya que al ser éste un ácido graso saturado, no necesita ser hidrogenado y, en particular este ácido graso, no tiene efectos adversos sobre la salud (Mensink *et al.*, 1994). En este sentido, el ácido oleico al ser un aceite monoinsaturado resulta excelente para promover la salud y prevenir enfermedades.

Los porcentajes individuales de ácidos grasos del aceite varían ampliamente entre especies, pero también existe variabilidad intraespecífica pudiendo ser ésta aún mayor que la interespecífica (Figura 1.2; Aguirrezábal *et al.*, 2009), por ejemplo, las variaciones del porcentaje de ácido oleico en el aceite de girasol (CODEX STAN 210, Standard for Named Vegetable Oils, 2013).

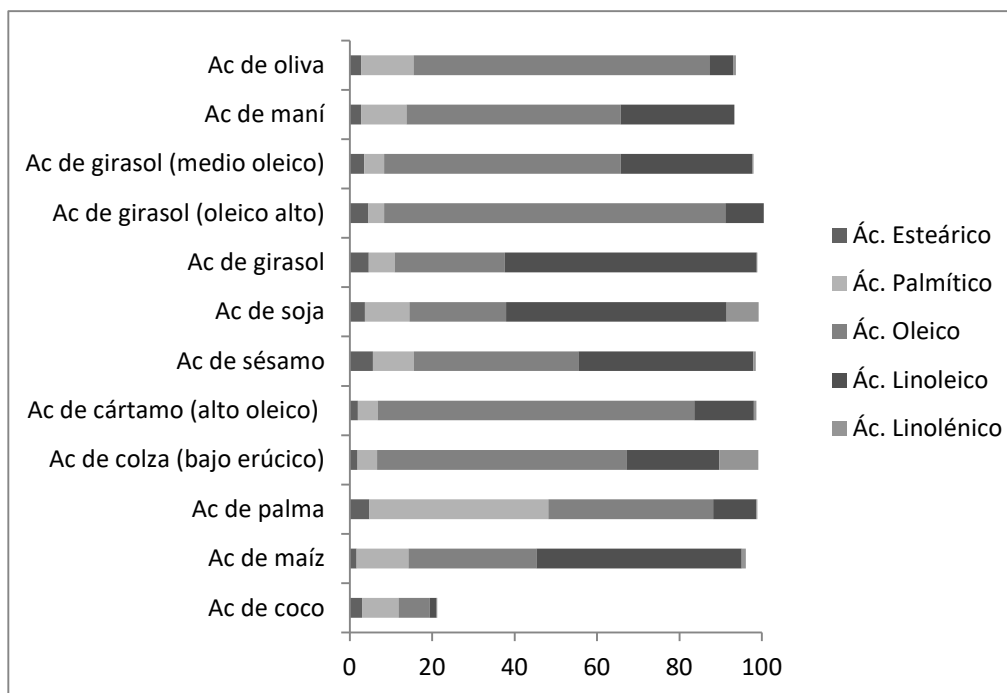


Figura 1.2. Composición en ácidos grasos característica de distintos aceites vegetales de cultivares tradicionales y con composición ácida modificada expresados en porcentaje del contenido total de ácidos grasos. (Fuente: <http://www.codexalimentarius.org/>, CODEX STAN 19-2013. Standard for Edible Fats and Oils not Covered by Individual Standards).

1.2 Aceite de girasol

1.2.1 Biosíntesis de ácidos grasos

La síntesis de novo de ácidos grasos demanda una alta energía y requiere cantidades estequiométricas de ATP, NADPH, y NADH para cada adición secuencial de una unidad de acetilo a la cadena en crecimiento del ácido graso (Stumpf, 1980). Se la puede dividir en etapas que son catalizadas por sistemas enzimáticos distintos y que ocurren en compartimentos diferenciados.

La primera etapa, se lleva a cabo en el estroma de los plástidos de células vegetales y consiste en la síntesis de ácidos grasos de 16 carbonos (ácido palmítico). Se inicia con acetil-CoA como sustrato y es catalizada por la acción coordinada de dos enzimas: acetil-CoA carboxilasa y el complejo multienzimático ácido graso sintasa (FAS, Hardwood, 2005). Como productos de estas reacciones se obtienen principalmente palmitoil y estearoil-ACP. La mayor parte del estearoil-ACP es desaturado a oleoil-ACP por acción de la enzima soluble estearoil ACP desaturasa (SAD).

La elongación de los ácidos grasos finaliza cuando el ACP es separado del grupo acilo (acil-ACP tioesterasas). Los ácidos grasos libres son activados a ésteres de CoA, exportados hacia el citosol y ensamblados en glicerolípidos dentro del retículo endoplásmico. La desaturación del ácido oleico a linoleico se realiza sobre la molécula de fosfatidilcolina como principal sustrato, en una reacción catalizada por la oleato desaturasa (FAD2; Garcés *et al.*, 1992; Kabbaj *et al.*, 1996; Somerville y Browse, 1996; Schwartzbeck *et al.*, 2001; Figura 1.3).

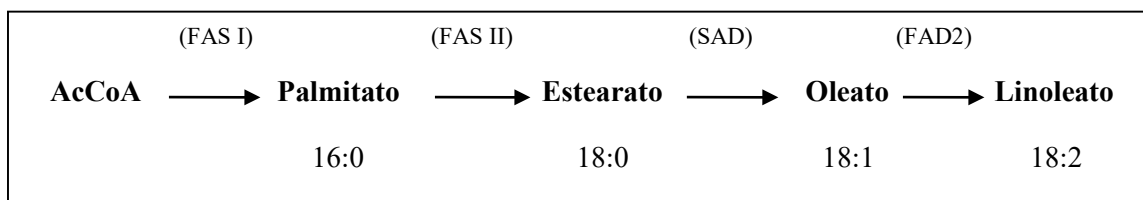


Figura 1.3.: Representación esquemática de la síntesis de ácidos grasos en girasol (tomado de Echarte *et al.*, 2009). FAS I y FAS II: complejo ácido graso sintasa I y II respectivamente; SAD: estearoil-ACP desaturasa; FAD2: oleoil fosfatidilcolina desaturasa2.

Muchas de las investigaciones actuales están orientadas a comprender los mecanismos de regulación de la biosíntesis de aceite. Estudios recientes han ampliado los conocimientos acerca de los mecanismos bioquímicos y fisiológicos que regulan la maduración de la semilla, incluyendo la deposición de reservas (Baud y Lepiniec, 2010). Este conocimiento ha permitido aumentar la utilidad de los productos de cultivos oleaginosos mediante el uso de la biología molecular y del mejoramiento.

1.2.2 Salud y nutrición humana

La producción de aceite de girasol se ha visto impulsada para abastecer como principales mercados el consumo humano directo y la industria. A partir de la demanda creciente de productos de alta calidad, el mejoramiento genético y las investigaciones agronómicas se han focalizado en mejorar los atributos de calidad del aceite para determinados usos (Izquierdo y Aguirrezábal, 2010; Aguirrezábal *et al.*, 2009; Pereyra-Irujo *et al.*, 2009; Vicente *et al.*, 2006).

El aceite de girasol es beneficioso para la salud por su composición muy baja en SFA (menor al 11%; Figura 1.2), por ser una fuente importante de ácidos grasos MUFA y PUFA, pero además por poseer una importante cantidad de Vitamina E (α Tocoferol).

Los SFA principales presentes en el aceite de girasol son los ácidos palmítico y esteárico y representan cerca del 10% del total de ácidos grasos (Velasco y Fernandez-Martinez, 2002).

Afectan de diferente manera las concentraciones de colesterol en las fracciones de las lipoproteínas plasmáticas. Por ejemplo, el ácido palmítico (C16:0) incrementa el colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) elevando el riesgo de enfermedades coronarias (Zock, 2006; Keys *et al.*, 1986; Kris-Etherton, *et al.*, 2005), mientras que el ácido esteárico (C18:0) no tiene este efecto (Eckel *et al.*, 2007; Aro *et al.*, 1997). La fracción LDL del colesterol tiene un papel significativo en el desarrollo de la arterioesclerosis.

El ácido oleico es el principal MUFA en girasol. Es relativamente estable en el almacenamiento y durante la fritura, dando al aceite una característica de alta estabilidad. Los cultivares con alto contenido de ácido oleico representan excelentes sustitutos para disminuir el consumo de grasas trans (Binkoski *et al.*, 2005). Por esta razón la selección para la obtención de contenidos de ácido oleico medio y alto se ha convertido en uno de los principales objetivos en girasol (Fernández Martínez *et al.*, 2009), como también la obtención de alto esteárico alto oleico.

Se ha demostrado que el alto contenido de ácido oleico en el aceite de oliva disminuye la penetración de ácidos grasos saturados en las paredes arteriales (Charbonnier, 1982). Los MUFA son más estables a la oxidación. Los aceites ricos en MUFA y bajos en SFA son preferidos porque combinan un efecto hipocolesterolémico y una alta estabilidad oxidativa (Mensink *et al.*, 2003; Heyden, 1994).

Los ácidos linoleico y alfa-linolénico son esenciales ya que no pueden ser sintetizados por los humanos (Reddy y Katan, 2004). Además, se ha demostrado que tanto los ácidos grasos omega 6 como omega 3 tienen propiedades antiinflamatorias protectoras de los cambios aterogénicos en las células vasculares endoteliales (De Caterina *et al.*, 2000). Se ha encontrado una asociación inversa entre ω -6 PUFA y el riesgo de presentar enfermedades coronarias (Eckel *et al.*, 2007).

Una de las principales preocupaciones sanitarias, en la producción de margarinas y de materias grasas para untar, es la utilización de aceite vegetal parcialmente hidrogenado, debido a que aumenta el contenido de TFA del producto (Tarrago-Trani *et al.*, 2006). El consumo de ácidos grasos trans tiene efectos adversos importantes sobre la salud ya que aumenta el LDL por lo que su presencia debe ser identificada en el marbete (Katan *et al.*, 1994; Mensink y Katan, 1992; Mozaffarian y Clarke, 2009) respetando las normas alimentarias, basadas en estándares y nomenclatura del Codex Alimentarius (2013).

1.2.3 Biocombustibles

Si bien los aceites vegetales se usan principalmente con fines alimentarios, en los últimos años, se ha incrementado su uso como materia prima para usos industriales y producción de

biocombustibles. En un contexto de inestabilidad de los mercados de combustibles fósiles, de su inminente futuro agotamiento y de la preocupación por su contribución al cambio climático, los biocombustibles constituyen una fuente de energía renovable y ambientalmente sustentable (Echarte *et al.*, 2010).

El aceite vegetal es el bioproducto químicamente más parecido a los aceites fósiles, y por lo tanto el mejor candidato para reemplazarlo en la industria química. El biodiesel producido por la transesterificación de aceites vegetales emerge como un biocombustible capaz de aumentar la sustentabilidad y desarrollo regional, contribuir a la reducción de la emisión de gases con efecto invernadero y a la seguridad de abastecimiento energético (Reijnders, 2006).

Las propiedades del biodiesel obtenido dependen de la composición química del aceite, particularmente de su composición ácida. Así, por ejemplo, la calidad de ignición (medida a través del número de cetano) y la estabilidad oxidativa disminuyen con el grado de insaturación del aceite (Pereyra Irujo *et al.*, 2009).

El uso de aceites ricos en MUFA (ácido oleico) permite lograr calidades que responden a los parámetros de biodiesel (Durrett *et al.*, 2008). En este sentido, se ha encontrado que el aceite de híbridos tradicionales de girasol es apto para la producción de biodiesel dentro de los estándares establecidos de Argentina y Estados Unidos mientras que solo algunos híbridos podrían cumplir con las normas de calidad de biodiesel de Europa (Pereyra Irujo *et al.*, 2009).

1.3 Genotipos de girasol con diferente composición ácida potencial

El aceite de cultivares tradicionales de girasol posee típicamente bajo porcentaje de SFA (aproximadamente 4% de ácido esteárico y 6% de ácido palmítico), 15-30% de MUFA (ácido oleico) y la mayor proporción (55-75%) corresponde al ácido linoleico (PUFA) (Sadras y Villalobos, 1996; Figura 1.2). Debido a que la composición en ácidos grasos es gobernada por un reducido número de genes (Velasco y Fernández-Martínez, 2002) ha sido posible desarrollar genotipos con distinta composición ácida potencial.

Dados los efectos benéficos del ácido oleico (reportado en secciones anteriores) éste se ha transformado en un objetivo de mejoramiento en la búsqueda de aceites de alta calidad. Actualmente existen en el mercado cultivares de girasol con diferente porcentaje de ácido oleico: tradicionales (20-30% de oleico), medio oleico (65-80%) y alto oleico (> 80%). Pervenets, el primer cultivar alto oleico de girasol, fue obtenido mediante mutagénesis química de un híbrido tradicional y posterior selección (Soldatov, 1976; Lagravère *et al.*, 1998), mientras que las variedades medio oleico se obtuvieron por cruzamiento de un híbrido alto oleico con uno tradicional. El área sembrada con híbridos alto oleico se ha incrementado siendo

aproximadamente de dos millones de hectáreas, representando cerca del 11% de la superficie girasolera total en el mundo (Labalette *et al.*, 2012).

El alto porcentaje de ácido oleico presente en las variedades comerciales que portan la mutación *Pervenets*, se debe a una duplicación que afecta el extremo 3' del gen de oleoil fosfatidilcolina desaturasa (*FAD2-1*), produciendo su silenciamiento y, en consecuencia, un incremento en el porcentaje de ácido oleico en comparación con los híbridos tradicionales (Lacombe *et al.*, 2009; Shuppert *et al.*, 2006). Una nueva mutación de girasol alto oleico, que dio origen al mutante 29066, ha sido recientemente descrita por León *et al.* (2013).

Estos aceites poseen una composición similar a la del aceite de oliva, aunque se diferencian de este último por no presentar un marcado aroma, propiedad indeseable para algunos usos. Esta característica probablemente se deba al método de extracción utilizado para cada especie (prensado o mediante solventes).

La obtención de aceites con más de un carácter mejorado se presenta como alternativa interesante con un gran potencial de mercado, ya que un mismo aceite puede simultáneamente mantener la calidad culinaria y brindar utilidades en la industria (consumo e industrial). Así, se han desarrollado cultivares que contienen dos mutaciones resultando en, por ejemplo, aceites alto esteárico-alto oleico (Fernández-Moya *et al.*, 2005; Serrano-Vega *et al.*, 2005).

Es importante desarrollar aceites de girasol con características novedosas de calidad para aumentar el valor agregado del producto y conquistar nuevos mercados. Aumentar el valor agregado del producto sería especialmente deseable en zonas marginales y ambientes de baja productividad (por ejemplo, la región NEA).

1.4 Factores ambientales. Efecto sobre el peso y la calidad de granos y aceite de girasol

El fruto o achenio (grano) de girasol consta del pericarpio (cáscara) y de la semilla (pepa). El pericarpio representa entre el 20-25% del peso final del grano. La semilla incluye la cubierta seminal, el eje embrionario y los cotiledones. En ella se acumula la mayor proporción de lípidos del grano, y entre sus componentes el embrión contiene 65-70% del aceite (Aguirrezábal y Pereyra, 1998; Connor y Hall, 1997).

El peso y la composición final de los granos dependen fuertemente de las condiciones ambientales durante el cultivo, especialmente durante la etapa de llenado de granos (Connor y Sadras, 1992). Numerosos estudios han contribuido a comprender cómo las condiciones ambientales durante esta etapa afectan el rendimiento y la calidad del aceite. Así, por ejemplo, el déficit hídrico ocurrido durante el llenado de granos, aún por un breve período, puede reducir el porcentaje de aceite en el grano (Hall *et al.*, 1985) o afectar su composición ácida (Santonoceto *et al.*, 2002; Anastasi *et al.*, 2010; Roche *et al.*, 2006). La disponibilidad de

nitrógeno por su parte puede afectar el porcentaje de aceite (Steer *et al.*, 1984; Steer y Seiler, 1990). Otros factores como la salinidad de suelos (Irving *et al.*, 1988) y el estado sanitario del cultivo (Zimmer y Zimmerman, 1972), pueden también modificar la composición en ácidos grasos.

Además, se ha evidenciado la interacción genotipo x ambiente x manejo en condiciones de déficit hídrico (Grieu *et al.*, 2008) y se ha demostrado que esta interacción puede dificultar los programas de mejoramiento destinados a liberar genotipos con diferentes atributos agronómicos que puedan expresar gran adaptabilidad a diferentes ambientes (de la Vega y Chapman, 2006; 2010). En un estudio realizado sobre 10 híbridos de girasol evaluados en 21 ambientes de la Argentina, por ejemplo, se observó que la variación de rendimiento explicada por el efecto de la interacción fue tres veces mayor que la explicada por el efecto genotípico (de la Vega *et al.*, 2001).

1.4.1 Efectos de la temperatura y la radiación solar interceptada sobre la calidad de aceite

El peso y la composición de los granos de girasol dependen del carbono traslocado a los granos que proviene de la fotosíntesis -principalmente de hojas- contemporánea al llenado de los mismos (Hall *et al.*, 1990; López Pereira *et al.*, 2008). Por esto, su acumulación depende en gran medida de las condiciones ambientales que inciden sobre su fijación y, en menor medida, de factores que afectan procesos que contribuyen al balance de carbono durante este período (respiración, removilización de reservas, etc., Andrade y Ferreiro, 1996; Dosio *et al.*, 2000). Un factor determinante para la fijación de carbono es la radiación fotosintéticamente activa interceptada por las plantas (RSI) durante el llenado de granos (Aguirrezábal *et al.*, 2003; Izquierdo *et al.*, 2008).

La temperatura es el principal factor ambiental que afecta la composición ácida del aceite de híbridos tradicionales de girasol (Canvin, 1965). La calidad del aceite se evalúa teniendo en cuenta principalmente los porcentajes de los ácidos oleico y linoleico debido a que representan más del 90% de los ácidos grasos presentes en el aceite de girasol. El aumento de la temperatura produce disminuciones en el contenido de ácido linoleico e incrementos en el de ácido oleico (Canvin, 1965; Harris *et al.*, 1978; Silver *et al.*, 1984; Kabbaj *et al.*, 1996).

En varios estudios las variaciones en el porcentaje de ácido oleico obtenidas en condiciones de campo han sido relacionadas con diferentes expresiones de temperatura (temperatura mínima, máxima, media diaria) (Harris *et al.*, 1978; Nagao y Yamazaki, 1983; Seiler, 1986; Sobrino *et al.*, 2003). Izquierdo *et al.*, (2002) demostraron que la temperatura mínima nocturna, fue la que mejor explicó las variaciones en la proporción de ácidos grasos en el aceite de un

híbrido tradicional de girasol. Posteriormente se estableció el período de mayor sensibilidad a la temperatura, el cual está comprendido entre 100 y 300°Cd (temperatura base 6°C) desde la floración (Izquierdo et al., 2006). La temperatura afecta la actividad de la enzima oleato desaturasa (FAD2; Trémolieres et al., 1982; Sarmiento et al., 1998; Tang et al., 2005). La mayor sensibilidad encontrada en períodos tempranos del llenado de granos coincide con la mayor actividad total de la enzima FAD2 (Garcés y Mancha, 1991; Kabbaj et al., 1996). Se ha observado que la actividad de la enzima es afectada no sólo por la temperatura sino también por la disponibilidad de oxígeno en la pepa (García-Díaz et al., 2002). Un mecanismo por el cual la temperatura modifica el grado de insaturación del aceite de girasol, es a través de su efecto sobre los niveles internos de oxígeno en la semilla en desarrollo (Rolletschek et al., 2007).

El porcentaje de ácido oleico en girasol se relacionó fuertemente con la temperatura mínima nocturna en un período corto del llenado y estaría relacionado con el aumento de la actividad de la enzima durante la noche (Pleite *et al.*, 2008). La respuesta a la TMN según una función sigmoidea, caracterizada por un valor mínimo de ácido oleico (y_0) a una temperatura t_{inf} que se incrementa hasta un valor máximo ($y_{máx}$) a una temperatura t_{sup} . Entre estos umbrales de temperatura se define la zona de alta respuesta con un incremento de ácido oleico casi lineal (Figura 1.4).

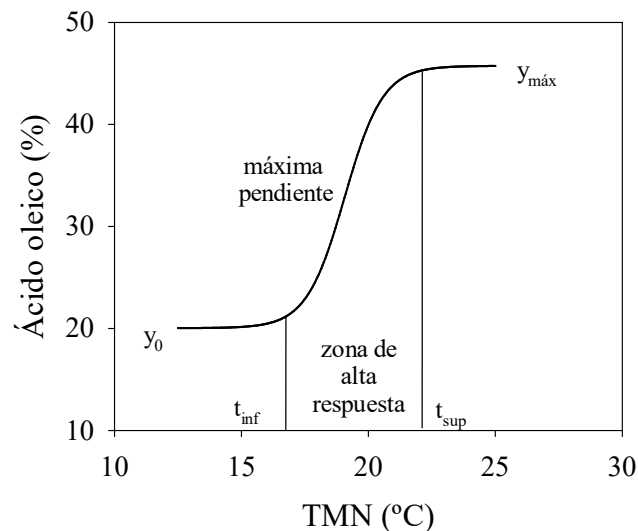


Figura 1.4. Representación esquemática del modelo sigmoideo utilizado para describir la relación entre el porcentaje de ácido oleico y la temperatura mínima nocturna durante el período 100-300°C ddf (Izquierdo y Aguirrezábal, 2008).

Esta función sigmoidea resultó útil para explicar la respuesta del porcentaje de ácido oleico de siete híbridos tradicionales y un híbrido alto oleico cultivados en diferentes zonas (Izquierdo y Aguirrezábal, 2008). Los diferentes parámetros de la función evidenciaron la variabilidad genética de esta respuesta entre los híbridos tradicionales. El único híbrido alto oleico estudiado mostró menor sensibilidad a la temperatura según se expresó en la menor diferencia entre los parámetros para el mínimo y máximo porcentaje de ácido oleico. Hasta la fecha, se desconoce si este modelo sigmoideo también sería útil para estudiar la variabilidad entre genotipos con composición acídica mejorada (por ejemplo, entre híbridos alto oleico).

Se ha reportado una mayor estabilidad entre ambientes de la composición acídica de híbridos alto oleico que de híbridos tradicionales (Izquierdo *et al.*, 2002). Sin embargo, los híbridos alto oleico mostraron diferencias en su respuesta al ambiente y en el máximo porcentaje de ácido oleico alcanzable (Triboï-Blondel *et al.*, 2000; Lúquez *et al.*, 2002; Roche *et al.*, 2006). Es importante considerar las variaciones en el porcentaje de ácido oleico por efecto de la temperatura, ya que en algunas condiciones podría ocurrir que no se alcancen los niveles establecidos para cumplir con las normas de recibo de este tipo de aceite. En el estudio de la variabilidad genética de la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna, el híbrido alto oleico Trisol600 (portador de la mutación Pervenets) respondió al modelo sigmoideo propuesto. Recientemente, se profundizó en el estudio del efecto de la temperatura en 2 isolíneas de girasol, una de ellas de tipo alto oleico portadora de la mutación Pervenets y otra de tipo ultra alto oleico portadora de la mutación 29066 (Alberio *et al.*, 2016). Mediante experimentos realizados en diferentes localidades, fechas de siembra y años estos autores lograron un rango de temperatura mínima nocturna de 12,4 a 22,1°C. El ácido oleico en el genotipo ultra alto oleico mostró un comportamiento estable en el rango de temperaturas mínimas nocturnas explorado durante el período 100-300°C ddf, mientras que en el genotipo alto oleico ADV 363, portador de la mutación Pervenets (P), se ha observado una relación lineal positiva (directa) entre el porcentaje de ácido oleico y la temperatura mínima nocturna.

Por lo tanto, se plantea que **existe variabilidad genética en la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna de híbridos alto oleico portadores de la mutación Pervenets (Hipótesis 1)**. En esta tesis, se propone **analizar la respuesta del porcentaje de ácido oleico de distintos híbridos de girasol con composición acídica mejorada a la temperatura mínima nocturna (Objetivo 1)** utilizando el modelo propuesto para estudiar la variabilidad genética en híbridos tradicionales.

Las respuestas de las plantas al ambiente pueden ser predichas, descriptas o analizadas utilizando diferentes modelos (Jones, 2014) que pueden variar desde descripciones mecánicas detalladas a simples curvas de respuesta a las variables ambientales (Tardieu, 2003). Estos pueden ser utilizados para analizar caracteres más complejos con una significativa interacción

genotipo-ambiente o efectos pleiotrópicos. Si los modelos son robustos, un set de parámetros representa un genotipo (Hammer *et al.*, 2006). Con una misma expresión funcional que caracteriza la respuesta de varios híbridos, el análisis de la variabilidad de los parámetros del modelo proporciona información importante acerca de la naturaleza de la interacción genotipo-ambiente y provee nuevos parámetros que son independientes del ambiente. Identificar por ejemplo cuáles parámetros de la función que relaciona el porcentaje de ácido oleico con la temperatura mínima nocturna, al ser modificados impactan mayormente en la composición ácida, generaría información valiosa para el mejoramiento de la calidad del aceite de girasol (Aguirrezábal *et al.*, 2014). Dado que esta función permitiría conocer el fenotipo de un determinado genotipo en respuesta a la temperatura en cualquier ambiente, esta información podría ser útil para identificar un bajo número de temperaturas que permitieran fenotipar la respuesta del porcentaje de ácido oleico de numerosos genotipos con pocos experimentos y así reducir los esfuerzos, el tiempo y los costos para identificar los mejores genotipos. Así, estableciendo un bajo número de temperaturas se podrían identificar ambientes donde éstas ocurran habitualmente durante el llenado. En este sentido, conociendo las respuestas en numerosos híbridos alto oleico, se postula que **un bajo número de temperaturas (≤ 3) permiten predecir el comportamiento de los híbridos en un amplio rango de temperaturas durante el llenado (Hipótesis 2)**. Para ello, se propone **identificar las temperaturas que permiten reproducir la clasificación de los híbridos obtenida con un amplio rango de temperaturas mínimas nocturnas (Objetivo 2)**.

1.4.2 Efectos de la temperatura y la radiación solar interceptada sobre el peso y el porcentaje de aceite

Por ser el girasol una especie oleaginosa, la expresión de su rendimiento comercial considera, además del número y el peso de los granos, su porcentaje de aceite y por esto, la calidad de los granos se evalúa habitualmente en términos de su porcentaje de aceite (Sadras y Villalobos, 1994). El rendimiento en aceite es el principal criterio de selección de la mayoría de los programas de mejoramiento de girasol y contribuye casi exclusivamente a la formación de su precio. En estudios destinados a evaluar la contribución del mejoramiento genético al potencial de rendimiento, se determinó que podrían lograrse incrementos manteniendo el número de granos aproximadamente en 7500 m² y aumentando el peso de grano y/o el porcentaje de aceite (López Pereira *et al.*, 1999). Posteriormente, un análisis destinado a cuantificar los aumentos en el rendimiento de aceite (122 ensayos en el campo) mostró que el incremento de la producción de aceite producto del mejoramiento, para la región central de Argentina, ha sido continuo durante 20 años (de la Vega *et al.*, 2007).

El porcentaje de aceite en los granos se expresa habitualmente como la relación porcentual entre el peso del aceite y el peso de los granos. Las partidas que poseen un porcentaje de aceite superior a una base reciben bonificaciones. Según las normas de comercialización, la base para la compra-venta de girasol vigente es de 42% de contenido de materia grasa (Resolución 1075, Norma IX, SENASA). Los híbridos de girasol cultivados en Argentina contienen porcentajes de aceite que varían entre 38 y 56% (Aguirrezábal y Pereyra, 1998; Agüero *et al.*, 1999; Quiroz *et al.*, 2000). Estas variaciones entre híbridos se deben a diferencias en la proporción de pericarpio y del porcentaje de aceite en la pepa. A través de los años, fue posible obtener mejoras en el rendimiento de aceite en girasol aumentando tanto la proporción de pepa como el porcentaje de aceite en la pepa (López Pereira *et al.*, 2000; Tang *et al.*, 2006; de la Vega *et al.*, 2007). Así, por ejemplo, se han observado diferencias de aproximadamente 8 puntos porcentuales de aceite entre un híbrido de pericarpio estriado y uno de cáscara negra, y fueron principalmente explicadas por diferencias en el porcentaje de pepa (Dosio, 1998).

El rendimiento de los cultivos en condiciones hídricas y nutricionales no limitantes está determinado principalmente por la RSI por las plantas y la temperatura. La relación entre estas variables ambientales y el rendimiento ha sido estudiada en varios cultivos (en trigo Fischer, 1985; Abbate *et al.*, 1997; en arroz Islam, 1992; en maíz, girasol y soja Andrade *et al.*, 2005; en girasol Aguirrezábal *et al.*, 2003).

El efecto de la radiación solar sobre el peso de los granos y el porcentaje de aceite ha sido determinado en distintas especies. La disminución en la cantidad de radiación incidente acumulada durante el período de llenado redujo el peso final de los granos en maíz, girasol y soja (Andrade y Ferreiro, 1996; Andrade *et al.*, 2000). En girasol, se observó el aumento exponencial hasta un máximo, del peso y porcentaje de aceite de los granos con el incremento de la radiación solar interceptada por planta durante el llenado (Dosio *et al.*, 2000). El mismo patrón de respuesta del peso de los granos y porcentaje de aceite a la radiación solar interceptada fue hallado en híbridos de girasol con pericarpio negro y estriado (Izquierdo *et al.*, 2008).

Se ha identificado un período durante el llenado de granos en el cual el peso y porcentaje de aceite mostraron la mayor sensibilidad a cambios en la radiación solar interceptada por el cultivo (Aguirrezábal *et al.*, 2003). Este período crítico comienza y termina en límites fijos de tiempo térmico después de floración, entre 250°Cd df y 450°Cd df.

Se ha reportado variabilidad genética intraespecífica de la respuesta del peso de granos y porcentaje de aceite a la RSI (Dosio, *et al.*, 2000; Santalla *et al.*, 2002). Si bien no se registraron diferencias en la respuesta del peso de grano entre híbridos de pericarpio negro y estriado, este último alcanzó el máximo porcentaje de aceite a menores niveles de RSI que el híbrido de pericarpio negro (Izquierdo *et al.*, 2008).

Si bien se han logrado significativos avances en el estudio de los efectos de la RSI sobre el peso de los granos y el porcentaje de aceite en girasol, poco se conoce acerca de la relación entre la temperatura y estos componentes del rendimiento. Chimenti *et al.* (2001) encontraron una respuesta curvilínea decreciente del peso final de embriones de una línea endocriada de girasol con el aumento de la temperatura en condiciones semicontroladas. Una respuesta lineal negativa fue encontrada por Ploschuk y Hall (1995) trabajando con un híbrido sembrado en el campo y analizando granos enteros de girasol.

El efecto de la temperatura sobre el porcentaje de aceite ha sido aún menos investigado que sobre el peso de los granos y las investigaciones han arrojado resultados controversiales. Se observó que el porcentaje de aceite disminuyó (Unger y Thompson, 1982; Nagao y Yamazaki, 1983; Seiler, 1986) o aumentó (Goyne *et al.*, 1979; Roche *et al.*, 2006) en respuesta a la disminución de la temperatura. Por su parte, Rondanini *et al.*, (2003, 2006) no observaron respuesta del porcentaje y el contenido de aceite a temperaturas medias inferiores a 30°C. Roche *et al.* (2006) atribuyeron los cambios en el porcentaje de aceite obtenidos en experimentos con diferentes fechas de siembra, a diferencias en la temperatura media durante el llenado de granos. Según estos autores, un mayor porcentaje de aceite sería favorecido por menores temperaturas tanto en híbridos tradicionales como en híbridos con composición ácida modificada. En experimentos realizados en condiciones controladas o semicontroladas se encontró una relación negativa entre el porcentaje de aceite y la temperatura media durante el llenado de los granos (Harris *et al.*, 1978; Rawson *et al.*, 1984; Merrien, 1992).

En los estudios realizados en el campo, se analizaron simultáneamente distintos factores (fecha de siembra, genotipo, régimen hídrico y localidad) que afectaron el porcentaje de aceite, sin embargo, no se consideraron las diferencias en la RSI en los distintos tratamientos y ambientes, cuya importancia en la determinación del peso de granos y porcentaje de aceite ha sido demostrada (Dosio *et al.*, 2000; Santalla *et al.*, 2002; Aguirrezábal *et al.*, 2003; Izquierdo *et al.*, 2008).

La información encontrada para otras especies oleaginosas tampoco aporta evidencias concluyentes acerca de la respuesta del peso y el porcentaje de aceite a la temperatura. En olivo, por ejemplo, el peso de frutos no se modificó entre 16 y 25°C, pero sí se redujo con temperaturas superiores, mientras que el porcentaje de aceite disminuyó linealmente en un rango comprendido entre 16 y 32°C (García-Inza *et al.*, 2014). En soja se han observado incrementos del porcentaje de aceite en respuesta al aumento de temperatura media y disminuciones con temperaturas superiores a 28°C (Piper y Boote, 1999; Thomas *et al.*, 2003; Wilson, 2004).

Las controversias entre las investigaciones realizadas tanto en girasol como en otras especies oleaginosas evidencian un gran nivel de complejidad en el efecto de la temperatura

sobre el rendimiento en grano y aceite (Hall, 2004) y sugieren la necesidad de profundizar los estudios llevados a cabo hasta el momento. Para esto sería útil realizar determinaciones en condiciones controladas que permitan explorar un amplio rango de temperaturas y separar su efecto del de otros factores. Conocer el patrón de respuesta del peso y porcentaje de aceite a la temperatura durante el llenado de los granos contribuiría a mejorar los modelos predictivos del rendimiento (por ej. Pereyra Irujo y Aguirrezábal, 2007), y permitiría además optimizar el manejo del cultivo para obtener mayores rendimientos.

En este contexto se plantea que **una única expresión funcional caracteriza la respuesta del peso o del porcentaje de aceite de granos de diferentes genotipos de girasol tradicional a partir de la temperatura media durante el llenado de los granos (Hipótesis 3)**. Por esto, en la presente tesis se propone **caracterizar la respuesta del peso y el porcentaje de aceite de diferentes genotipos de girasol tradicional a la temperatura media durante el llenado de los granos (Objetivo 3)**.

La temperatura condiciona diferentes procesos en las plantas. Por un lado, afecta el desarrollo acortando el período de llenado de granos cuando las plantas son expuestas a mayores temperaturas (Villalobos *et al.*, 1996). Por otro lado, la temperatura regula la tasa a la cual el llenado ocurre (Ploschuk y Hall, 1995) afectando el número de granos (Chimenti y Hall, 2001) y la tasa de crecimiento del embrión (Chimenti *et al.*, 2001). Podría esperarse que el aumento en la tasa de desarrollo disminuya la acumulación de radiación solar interceptada durante el período crítico (Aguirrezábal *et al.*, 2003) provocando una reducción en el peso y porcentaje de aceite de los granos. Sin embargo, los conocimientos actuales no permiten conocer si la temperatura actúa modificando la duración de la ventana de acumulación de RSI o si además tiene un efecto directo sobre la tasa de llenado de granos.

En comparación con otros cultivos, en girasol es difícil separar los efectos de la temperatura de los de la radiación solar debido a la ausencia de marcadores fenológicos visibles que establecen claramente los estados de desarrollo del grano (ej trigo). Además, en condiciones naturales, los cambios en la radiación solar incidente están correlacionados con variaciones en la temperatura siendo difícil separar sus efectos

En consecuencia, **los efectos de la temperatura sobre el peso y el porcentaje de aceite podrían estar solamente mediados por una menor acumulación de RSI como consecuencia del acortamiento del período de llenado (Hipótesis 4)**. Se propone **conocer si los efectos de la temperatura sobre el peso y el porcentaje de aceite son mediados solamente por el efecto que ésta produce sobre la duración del período crítico (menor RSI a mayor temperatura) (Objetivo 4)**. Alternativamente podría existir además un efecto directo de la temperatura sobre estas variables.

Estructura de la tesis

La presente tesis está estructurada de la siguiente manera:

En el **capítulo 2** se describen los materiales y métodos, técnicas y análisis de datos utilizados en toda la tesis.

En el **capítulo 3** se investiga la variabilidad genética de la respuesta del porcentaje de ácido oleico del aceite de híbridos de girasol con composición acídica mejorada a la temperatura mínima nocturna, sobre la base del estudio realizado en híbridos tradicionales, con el objeto de poner a prueba las hipótesis 1 y 2.

En el **capítulo 4** se estudia la respuesta del peso y porcentaje de aceite de los granos de híbridos de girasol tradicional a la temperatura, radiación solar interceptada y al efecto conjunto de ambos factores con el objeto de poner a prueba las hipótesis 4 y 5.

En el **capítulo 5** se presentan las consideraciones finales sobre los resultados obtenidos, las principales contribuciones y perspectivas que surgen de esta tesis.

CAPÍTULO 2
Materiales y Métodos

MATERIALES Y MÉTODOS

En el capítulo anterior se presentó la Introducción general, en la que se aborda el estado del arte del tema y se plantean las hipótesis y los objetivos específicos de la tesis. En este capítulo se describen los experimentos, las mediciones y el análisis de los datos obtenidos, organizados en relación a los posteriores capítulos donde se presentan los resultados.

Al respecto declaro que los datos presentados en esta tesis provienen de:

- a) Experimentos realizados en el campo en tres localidades: Presidencia Roque Saénz Peña, en la cual he conducido los ensayos desde la siembra hasta la cosecha; Paraná, en la que conduje en forma conjunta con el Ing Agr (PhD) Oscar Valentinuz, participando presencialmente en el ensayo durante la emergencia, la aplicación de los tratamientos y la cosecha; Balcarce, en la que, debido a la distancia y superposición en el tiempo, los ensayos fueron dirigidos por el Director y Codirectora de esta tesis. Asimismo, participé durante distintas estadias, en numerosas determinaciones del porcentaje de aceite y la composición ácida en el Laboratorio de Calidad de Granos y Aceites del INTA Balcarce.
- b) La Red Nacional de Cultivares Comerciales de Girasol del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA-ASAGIR).

2.1 Variabilidad genética de la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna en híbridos de girasol alto oleico.

La variabilidad genética de la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna (TMN) se estudió en diferentes genotipos alto oleico, mediante el análisis de los datos obtenidos de la Red Nacional de Evaluación de Cultivares Comerciales de Girasol del INTA (RNG). Los resultados de este estudio se presentan en el Capítulo 3.

2.1.1 Descripción de los experimentos

Para investigar la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna, se utilizaron datos de 17 híbridos alto oleico (Tabla 2.1), cultivados en diferentes localidades de Argentina (entre 29 y 38° S), con valores de TMN entre 12,9 y 21,6°C. El set de datos analizados incluyó 46 ensayos en 15 localidades durante el período comprendido entre 2005/2006–2012/2013 (Tabla 2.1). El diseño utilizado fue en bloques completos al azar o alfa-lattice con tres repeticiones. La parcela experimental consistió en tres o cuatro surcos de 5,5 m de longitud espaciados a 0,50 o 0,70 m entre sí. Las parcelas fueron raleadas a una densidad de 45.600-55.000 plantas ha⁻¹. Las malezas, insectos y enfermedades fueron controlados química o mecánicamente. Todos los ensayos fueron conducidos en condiciones de secano y las

deficiencias nutricionales fueron superadas con fertilización. Las fechas de siembra fueron cercanas a las óptimas recomendadas para cada localidad. La floración fue definida cuando el 50% de las plantas de la parcela alcanzaron la antesis (R-5.5, Schneiter y Miller, 1981). En el estado R4 (Schneiter y Miller, 1981) cuando las inflorescencias comenzaron a abrirse, 10 plantas representativas de cada parcela fueron señaladas para la cosecha y sus capítulos fueron cubiertos con bolsas de polinización (Delnet, Rosario, Argentina) para evitar la polinización cruzada entre diferentes híbridos. Los capítulos cubiertos fueron cosechados y secados en estufa a 60°C.

Tabla 2.1. Localidades e híbridos evaluados en la Red Nacional de Cultivares Comerciales de Girasol del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA-ASAGIR)

Localidad – Provincia	Latitud	Campaña	Híbridos seleccionados
Anguil, La Pampa	36° 32'	2008/09	ACA862HO ¹ , Aromo105 ² , Aromo11 ² , BS90INTA ³ , BS92INTA ³ , SRM822 ⁴ , SRM840 ⁴
Balcarce, Buenos Aires	37° 52'	2005/06, 2006/07, 2007/08, 2008/09, 2009/10, 2010/11, 2011/12, 2012/13	ACA862HO, ACA866 ¹ , Aromo105, Aromo 11, Atomic ⁵ , BS92INTA, DK3945OP ⁶ , NTO1.0 ⁷ , NTO4.0 ⁷ , Olisun ⁸ , Olisun2 ⁸ , SerranoAO ⁹ , Sierra ¹⁰ , SPS3200AO ⁵ , SRM822, SRM840
Bulnes, Córdoba	33° 31'	2012/13	Serrano,
Chacra Barrow, Buenos Aires	38° 19'	2005/06, 2006/07, 2007/08, 2008/09, 2009/10, 2010/11, 2011/12, 2012/13	AC886, Aromo 105, Aromo11, DK3945OP, NTO1.0, NTO4.0, Serrano, Sierra, SPS3200AO, SRM822, SRM840
Chacra Bellocq, Buenos Aires	35° 22'	2006/07, 2008/09	ACA862HO, ACA866, Aromo11, Atomic, DK3945OP, Olisun, Olisun2, Sierra
Huinca Renancó, Córdoba	34° 50'	2011/12, 2012/13	BS90INTA, BS92INTA, DK3945OP, Serrano
Manfredi, Córdoba	31° 50'	2005/06, 2006/07, 2007/08, 2008/09, 2009/10, 2010/11, 2011/12, 2012/13	ACA862HO, ACA866, Aromo 105, Aromo 11, Atomic, BS90INTA, BS92INTA, DK3945OP, NTO4.0, Olisun, Olisun2, Serrano, Sierra, SPS3200AO, SRM840,
Mercedes; Corrientes	29° 11'	2008/09	BS92INTA, DK3945OP
Miramar, Buenos Aires	38° 15'	2012/13	ACA866, Aromo 105, DK3945OP, NTO1.0, NTO4.0
Paraná, Entre Ríos	31° 44'	2006/07, 2007/08,	ACA862HO, Atomic, Olisun, Olisun2, Sierra, SPS3200AO, SRM822, SRM840
Pergamino, Buenos Aires	33° 54'	2008/09, 2012/13	Aromo 105, Aromo11, BS90INTA, DK3945OP, NTO4.0, Olisun2
Reconquista, Santa fe	29° 09'	2006/07, 2007/08, 2008/09, 2009/10, 2010/11, 2011/12, 2012/13	ACA866, Aromo11, Atomic, BS90INTA, BS92INTA, DK3945OP, NTO4.0, SerranoAO, Sierra, SPS3200AO, SRM840
San Miguel del Monte, Buenos Aires	35° 25'	2010/11	NT01.0, NTO4.0
Tandil, Buenos Aires	37° 19'	2012/13	ACA866, Aromo 105, NTO1.0
Vicuña Mackena, Córdoba	33° 55'	2011/12	BS90INTA, BS92INTA, DK3945O

Compañías semilleras: 1 Asociación de Cooperativas Argentinas ACA S.A., Pergamino, Buenos Aires, Argentina; 2 Nidera S.A., Junín, Buenos Aires, Argentina; 3 Biosol Semillas, Balcarce, Argentina; 4 Surse. S.A.: Pergamino, Buenos Aires, Argentina; 5 SPS Argentina S.A., Buenos Aires, Argentina. 6 Monsanto Argentina S.A.I.C., Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina; 7 Dow Agrosciences Argentina S.A., Colón, Buenos Aires, Argentina; 8 Advanta S.A.I.C., Junín, Buenos Aires, Argentina; 9 Producers S.A., Pergamino, Buenos Aires, Argentina; 10 Seed 2000 Argentina S.R.L., Venado Tuerto, Santa fe, Argentina.

2.1.2 Mediciones

Los datos de temperatura del aire fueron obtenidos de estaciones meteorológicas ubicadas en cercanías a los sitios de experimentación (<http://siga2.inta.gov.ar/>). La temperatura mínima nocturna (TMN) para el período 100-300°Cd desde la floración fue calculada utilizando una temperatura base de 6°C (Kiniry *et al.*, 1992).

2.1.3 Procesamiento de muestras y análisis químico

Una vez alcanzada la madurez fisiológica (R9, Schneiter y Miller, 1981), se cosecharon 10 capítulos autofecundados de cada híbrido y se colocaron en estufa a 60°C hasta peso constante. Los granos comprendidos entre los anillos 4 y 19 del capítulo fueron separados manualmente para determinar la composición ácida de granos fijados en fechas cercanas (± 2 días) y, por lo tanto, expuestos a condiciones ambientales similares (Izquierdo *et al.*, 2002).

Todas las determinaciones fueron realizadas en el Laboratorio de Calidad de Granos y Aceites del INTA Balcarce. La extracción y metilación del aceite fue recuperada siguiendo la técnica propuesta por Sukhija y Palmquist (1988). El aceite fue extraído con hexano: isopropanol (7:2, v/v) y Na₂SO₄ (67 g l⁻¹) en presencia de 200 µl de 1, 2, 3 triheptadenoil-glicerol (50 mg ml⁻¹) como un estándar interno. Las fases lipídicas de las muestras extraídas se evaporaron a sequedad bajo N₂. El residuo se disolvió en 0,5 ml de hexano y se incubó durante 1 h a 80 °C en presencia de la mezcla de metilación metanol: tolueno: H₂SO₄ (88:10:2) y 1 ml de heptano. Después de que las muestras se hubieran enfriado a temperatura ambiente, se separó la fase superior que contenía ésteres metílicos de ácidos grasos.

La composición ácida del aceite se determinó por cromatografía gaseosa (CGL) previa metilación de los ácidos grasos. Para esto se incubaron 50 µl de aceite con 1ml de cloroformo y 1 ml de ácido metanólico en Baño María a 70 °C durante 1 hora. Tras dejar enfriar, se les agregó 4 ml de K₂CO₃ al 6 % y se agitaron durante 1 minuto. Se dejó la mezcla en reposo hasta separación de fases, se retiró la fase acuosa (parte superior) y a la fase oleosa (parte inferior) se le agregó 2 ml de cloroformo. Se agitó durante 1 minuto y se dejó reposar hasta separación de fases. Se pasó 1.5 ml de la fase inferior conteniendo los ésteres metílicos a tubos viales para el cromatógrafo. Las determinaciones se realizaron con un cromatógrafo Shimadzu GC-2014. Se trabajó con una temperatura de horno, inyector y detector de 210°C, 240°C y 270°C, respectivamente. El tiempo de corrida fue de 17 minutos para girasol. Se utilizó N₂ como gas portador, una relación de split de 95/1 y detector FID (Detector de Ionización de Llama). Con esta técnica se identificaron los ácidos palmítico, esteárico, oleico, linoleico y linolénico. Mediante el área ocupada por cada ácido graso en comparación al total de la gráfica integrada se calculó el porcentaje de cada ácido graso en el aceite.

2.1.4 Análisis de datos

La relación entre el porcentaje de ácido oleico y TMN, fue analizada de acuerdo a una función sigmoidea previamente reportada (Izquierdo y Aguirrezábal, 2008). La ecuación matemática de la relación establecida es:

$$\% \text{ ácido oleico} = y_0 + a / (1 + \exp(-(x - x_0)/b)) \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde y_0 representa la mínima concentración de ácido oleico (%); a la diferencia entre la mínima y la máxima concentración de ácido oleico (%); x es la TMN durante el período 100-300°C/d (°C); x_0 la temperatura para la que la pendiente es máxima (°C) y b es la pendiente (%/°C).

La variabilidad genética de la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la TMN fue evaluada analizando y_0 y los parámetros derivados $y_{\text{máx}}$, el máximo porcentaje de ácido oleico calculado como $y_{\text{máx}} = y_0 + a$; y $b_{\text{máx}}$, la máxima pendiente calculada como $b_{\text{máx}} = (a \cdot b^{-1})/4$.

Con el fin de obtener estimaciones de la variabilidad de cada parámetro que permitan su comparación entre híbridos, se realizó un análisis de bootstrap según lo descrito por Izquierdo *et al.* (2006). Para cada híbrido, los datos fueron remuestreados 100 veces y la Ecuación 1 fue ajustada a cada set de datos remuestreados, obteniendo así 100 valores para cada parámetro del set original de datos. Los ajustes se realizaron utilizando complemento de Microsoft Excel y el software Sigmaplot 8.0 (1986–2001, SPSS Inc.).

Con los valores obtenidos del análisis de bootstrap para cada parámetro, se realizaron diagramas de cajas o boxplot, herramienta de la estadística descriptiva que suministra información sobre los valores mínimos y máximos y la simetría de la distribución de datos. En cada caja se representaron los percentiles 5 y 95% (círculos externos), 10 y 90% (líneas externas), 25 y 75% (límites de cada caja) y percentil 50% (línea media de la caja). Se calculó el rango de alta respuesta a la temperatura (°C) (Izquierdo y Aguirrezábal, 2008) cuyos límites están dados por la t_{inf} y la t_{sup} .

Utilizando la función ajustada para cada híbrido se calculó el porcentaje de ácido oleico teórico cada 0,5 °C en un rango de temperaturas (desde 14,0 hasta 20,5 °C), que abarcó el 95% de las temperaturas exploradas por los datos experimentales. Los híbridos se ordenaron en un ranking de acuerdo con: i) valores promedios del porcentaje de ácido oleico a todas las TMN (entre 14,0 y 20,5 °C); ii) valores de porcentaje de ácido oleico obtenidos a cada temperatura individual; iii) valores de porcentaje de ácido oleico obtenidos combinando dos temperaturas dentro del rango 14,0-20,5°C y iv) valores de porcentaje de ácido oleico obtenidos combinando tres temperaturas. Para comparar los diferentes rankings obtenidos se realizaron análisis de

correlación entre cada ranking obtenido y el valor medio de porcentaje de ácido oleico (valor “i”).

2.2 Efecto conjunto de la temperatura y la radiación solar interceptada sobre la respuesta del peso y porcentaje de aceite de los granos.

La respuesta del peso y porcentaje de aceite de los granos a la temperatura media (TM) se evaluó en los híbridos tradicionales ACA885, DK3820 y DK3881. Posteriormente se estudió la respuesta al efecto conjunto de la TM y la RSI durante el llenado de los granos, en los híbridos ACA885 y DK3820. Los experimentos se realizaron en cámaras de crecimiento y en el campo. Los resultados de este estudio se presentan en el Capítulo 4.

2.2.1 Descripción de experimentos

2.2.1.1 Descripción de experimentos en el campo

Los experimentos se realizaron en: Estación Agropecuaria INTA Presidencia Roque Sáenz Peña (26°S y 60° W, en lo sucesivo Sáenz Peña), Unidad Integrada Balcarce INTA-FCA (UNMdP) (37°S y 58° W, en lo sucesivo Balcarce) y Estación Agropecuaria INTA Paraná (31°S y 60°W, en lo sucesivo Paraná). Los experimentos se realizaron durante dos campañas en Balcarce: 2006/07 (B1), 2007/08 (B2), dos campañas en Sáenz Peña: 2006/07 (SP1) y 2007/08 (SP2) y una campaña en Paraná 2007/08 (P). Los ensayos se llevaron a cabo sin limitantes hídricas, nutricionales ni sanitarias. Las características de suelo en los sitios experimentales están detalladas en la Tabla 2.2. Además, se dispuso de datos obtenidos con el híbrido DK3881 en experimentos realizados en el campo, pertenecientes al laboratorio de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias-UNMdP y que son parte de la tesis de Natalia Gabriela Izquierdo. Los experimentos fueron realizados en Balcarce (37° S, 58° O) y en Córdoba (31° S, 64° O).

Tabla 2.2. Características de suelos de los sitios para experimentos realizados en Balcarce durante la campaña 2006-2007 (B1) y 2007–2008 (B2), en Paraná durante la campaña 2007–2008 (P) y en Sáenz Peña durante la campaña 2006-2007 (SP1) y 2007–2008(SP2).

	Balcarce (B1/B2)	Paraná (P)	Sáenz Peña (SP1/SP2)
Tipo de suelo	Argiudol típico	Argiudol típico	Haplustol
N-NO ₃ ⁻ (mg kg ⁻¹)	42,1/33,6	35,6	5,6/10,2
P Bray (mg kg ⁻¹)	56,5/51,4	28,3	74,2/67
Ph	5,5/5,7	6,2	7,1/7,2
Materia Orgánica (g 100g ⁻¹)	6,1/5,8	3,8	2,9/2,6

La fertilización aseguró la obtención de máximos rendimientos para un cultivo creciendo en condiciones no limitantes de agua (>5000 kg ha⁻¹; Andrade *et al.*, 2000; Sosa *et al.* 1999). De acuerdo a Díaz Zorita (2005), el análisis de suelo indicó que la fertilización con N no fue necesaria en Balcarce ni en Paraná, mientras que en Sáenz Peña se agregaron 80 kg ha⁻¹ de urea en el momento de la siembra. Aunque la concentración de P fue suficiente en las 3 localidades, en Sáenz Peña se aplicó fosfato diamónico (60 kg ha⁻¹) como iniciador, por ser una práctica recomendada (Aguirrezábal *et al.*, 1996) ya que la emergencia en esa localidad ocurre frecuentemente bajo condiciones de estrés. La precipitación fue complementada con riego para evitar déficit hídrico. El contenido de agua del suelo fue monitoreado cada 5-7 días usando sonda de neutrones (Troxler 4300, Troxler Electronic Laboratories, Inc., Research Triangle Park, NC). El riego fue aplicado para mantener el contenido hídrico por encima del 40% de agua disponible en los primeros 0,60 m del perfil de suelo durante toda la estación de crecimiento. Las plagas, enfermedades y malezas fueron adecuadamente controladas.

Se utilizó un diseño experimental en bloques con parcelas divididas con 3 repeticiones. La parcela principal fue adjudicada a los genotipos y las subparcelas a los tratamientos. El tamaño de la unidad experimental fue de cuatro surcos de 6 m de largo cada uno, espaciados a 0,70 m entre sí. Los datos de siembra, floración y madurez fisiológica están detallados en la Tabla 2.3. Luego de la emergencia, se ralearon plantas a una densidad final de 6,5 plantas.m⁻².

En floración, se utilizaron bolsas de autofecundación para prevenir polinización cruzada. La floración de las plantas fue definida por la aparición de los estambres en todas las flores del anillo externo del capítulo (estado R5.1, Schneiter y Miller, 1981). La floración de la unidad experimental fue considerada cuando más del 50% de las plantas alcanzaron el estado R5.1.

Cuando el 95% de las plantas alcanzaron el fin de la floración (3 días después de R6, Schneiter y Miller, 1981) y hasta la madurez fisiológica (estado R9, Schneiter y Miller, 1981), se aplicaron tratamientos para modificar la cantidad de radiación solar interceptada por planta, durante el período de llenado de granos.

Para estimar la madurez fisiológica, 15 granos de las hileras 4 a 19 de los capítulos fueron cosechados 2 veces por semana durante el llenado de granos. La extracción de los granos fue repetida en el mismo capítulo tantas veces hasta que el total extraído no excedió el 5% del número de granos promedio final del capítulo. Los granos fueron secados a 60°C y pesados. La madurez fisiológica fue determinada cuando el peso seco por grano se mantuvo constante.

De cada unidad experimental se cosecharon en madurez fisiológica 10 capítulos autofecundados de los surcos centrales. Se determinaron los componentes de rendimiento y calidad del aceite.

En la tabla 2.3 se presentan las fechas de siembra, floración y madurez fisiológica correspondientes a los híbridos y experimentos.

Tabla 2.3 Fecha de siembra (S), días desde siembra a floración (R5.1) y a madurez fisiológica (MF) para los híbridos ACA885 y DK3820 en los respectivos experimentos.

Híbrido	Experimento	Siembra	Floración (d)	Madurez Fisiológica (d)
ACA885	SP1	03/11/2006	76	98
	SP2	20/12/2007	54	92
	B1	09/11/2006	73	125
	B2	31/10/2007	83	126
	P	08/10/2007	84	167
DK3820	SP1	27/10/2006	68	101
	SP2	20/12/2007	55	79
	B1	09/11/2006	69	125
	B2	31/10/2007	78	127

En cada localidad (experimento) se aplicaron tratamientos a fin de modificar la radiación solar incidente. Éstos consistieron en:

- Raleo (**R**): fue realizado eliminando alternadamente plantas en el surco con el fin de obtener el 50% de la densidad original (3,3 plantas.m²).

- Sombreos: fueron realizados mediante colocación de estructuras metálicas cubiertas con mallas sintéticas, neutras, de color negro sobre la canopia de los dos surcos centrales de la parcela. La malla redujo la radiación solar incidente en un 50 (S 50) u 80% (S 80) (Dosio *et al.*, 2000; Izquierdo *et al.*, 2008).
- Combinación de Raleo (50% de plantas) y Sombreo de 50% (R+S50).
- Control (T): sin la aplicación de tratamiento experimental.

La aplicación de estos tratamientos en las distintas localidades (diferentes latitudes) permitió modificar la radiación solar incidente y la temperatura ambiente a la vez.

2.2.1.2 Descripción de experimentos en cámaras de crecimiento

Se realizaron experimentos en cámaras de crecimiento en la Unidad Integrada Balcarce. De cada genotipo se sembraron 5 semillas por maceta de 10 litros de capacidad cada una. Luego de la emergencia (6-7 días después de la siembra) las plantas se ralearon dejando sólo una por maceta. Se realizaron fertilizaciones y riegos para evitar estrés hídrico y/o nutricional de las plantas de acuerdo con Izquierdo *et al.* (2002). La fenología en cada planta fue registrada según la escala de Schneiter y Miller (1981). Antes de antesis los capítulos fueron cubiertos con bolsas de polinización para evitar la polinización cruzada entre plantas. Las plantas fueron mantenidas en invernáculo hasta la floración (R 5.1 de la escala). Después de floración fueron transferidas a 4 cámaras de crecimiento de 2,0 x 2,7 x 2,4 m de altura (Refrimax S.R.L., Mar del Plata, Argentina). Las plantas fueron expuestas a distintas temperaturas día/noche durante el llenado de los granos: Tratamiento 1: 14-16°C; Tratamiento 2: 17-19°C; Tratamiento 3: 21-23°C; Tratamiento 4: 24-26°C. La temperatura de cada cámara fue medida cada 60 s y el promedio horario fue almacenado en dataloggers (Cavadevices, Buenos Aires, Argentina). El fotoperíodo fue de 12 hs y la radiación incidente a la altura de los capítulos de $690 \pm 75 \mu\text{mol de fotones.m}^{-2}$. Cada experimento culminó cuando las plantas alcanzaron la madurez fisiológica, la que se determinó cuando el peso seco promedio de los granos se mantuvo constante.

2.2.2 Mediciones

La radiación global incidente (RG) se midió con piranómetro LI-200SB, LI-COR, Lincoln, NE y fue obtenida de las estaciones meteorológicas cercanas a los experimentos. La radiación fotosintéticamente activa (PAR) se calculó como $0,48 \times \text{RG}$ (Bonhomme, 1993). La proporción de radiación fotosintéticamente activa (PAR) interceptada por el cultivo al mediodía (± 1 h) fue calculada de acuerdo con Gallo y Daughtry (1986) como $1 - (\text{Rb}/\text{Ro})$, donde Rb es la radiación medida debajo de la última hoja verde inferior de las plantas y Ro es la radiación medida sobre

la canopia. Los valores de R_b y R_o fueron medidos semanalmente con un sensor lineal cuántico (LI-191SB, LI-COR, Lincoln, NE, USA), ubicado perpendicular al surco. La longitud del sensor fue modificada de acuerdo a la distancia entre surcos: 0,70 m. Se realizaron 3 mediciones por unidad experimental. De acuerdo con Charles-Edwards y Lawn (1984), la proporción diaria de PAR interceptada fue estimada como la proporción de PAR interceptada al mediodía $\times 2 / (1 + \text{proporción de PAR interceptada al mediodía})$. Esta corrección permite mejorar sustancialmente el error derivado de una simple medición al mediodía (Trapani et al., 1992). La proporción diaria de PAR interceptada entre mediciones fue calculada por interpolación lineal. La radiación interceptada por planta y por día fue calculada como el producto de PAR incidente diaria y proporción de PAR interceptada diaria, dividido por la densidad de plantas. La radiación solar interceptada acumulada por planta (RSI) fue calculada según Dosio *et al.* (2000) desde R6 hasta R9 (Schneider y Miller, 1981) y para el período crítico 250-450 °Cd df (Aguirrezábal *et al.*, 2003). La temperatura del aire fue medida usando termistores (Cavadevices, Buenos Aires, Argentina) al nivel del capítulo cada 60s y promediada cada hora. Los termistores fueron protegidos para prevenir la absorción de radiación solar. Las mediciones comenzaron después de floración y finalizaron en madurez fisiológica y fueron registradas por data loggers (Cavadevices©, BuenosAires, Argentina). El tiempo térmico después de floración (°C df) fue calculado a partir de la temperatura del aire usando una temperatura base de 6°C (Kiniry *et al.*, 1992).

2.2.3 Procesamiento de muestras y análisis químico

Una vez alcanzada la madurez fisiológica (R9, Schneider y Miller, 1981), se cosecharon 10 capítulos autofecundados de cada híbrido y tratamiento y se colocaron en estufa a 60°C hasta peso constante.

Los granos del capítulo fueron separados manualmente para determinar los componentes de rendimiento: número de granos llenos, peso total e individual de los granos y porcentaje de aceite (Izquierdo *et al.*, 2002). Se contaron y pesaron los frutos llenos de cada capítulo, considerando fruto lleno aquel cuya pepa ocupaba el menos un 20% del mismo. En cada tratamiento se obtuvo una muestra homogénea conformada por submuestras provenientes del sector 2 (filas 4 a 19) de cada capítulo trillado. La contribución de cada submuestra a la muestra final fue de al menos el 50% de su peso.

El peso individual de cada grano se calculó como el cociente entre el peso total y el número de granos por planta.

Para la medición del porcentaje de aceite en girasol, las muestras permanecieron en estufa a 60°C durante 24 horas, luego se determinó el porcentaje de aceite mediante resonancia

magnética nuclear (RMN, SPINLOCK S.R.L., Ciudad de Córdoba, Argentina) en una sala con ambiente controlado mediante acondicionador de aire a 23 °C, temperatura óptima para realizar la determinación. Esta técnica permite obtener el valor de porcentaje de aceite al comparar la señal de resonancia magnética de la muestra problema con la señal de una curva calibrada con patrones de concentración de aceite conocida.

2.2.4 Análisis de datos

El peso final de los granos (PG) y el porcentaje de aceite [A] (%) por grano de cada genotipo se relacionaron con la temperatura media (TM) durante el período de llenado de granos.

Para explicar las relaciones entre PG o [A] (%) y TM, a cada set de datos experimentales se ajustó una función plateau+lineal. La ecuación utilizada responde a la siguiente expresión matemática:

$$PG \text{ o } [A] (\%) = m + n \text{ cuando } TM < t; m + nTM \text{ cuando } TM > t \quad (\text{Ecuación 2})$$

Donde t representa el punto de inflexión de la función y n la pendiente

A fin de comparar los resultados de peso de los granos obtenidos en el Capítulo 5 con lo reportado por Chimenti *et al.* (2001), el peso final de embriones fue transformado en peso de granos. Para ello se utilizó la relación peso final del pericarpio/peso final de grano aportada por los autores.

Para los experimentos a campo, en cada genotipo se relacionaron las mismas variables con la RSI durante el llenado de granos y durante el período 250-450°Cd df (Aguirrezábal *et al.*, 2003). Se ajustaron funciones exponenciales con 3 parámetros:

$$PG \text{ o } [A] (\%) = y - j e^{-kRSI} \quad (\text{Ecuación 3})$$

y representa el peso de grano o porcentaje de aceite alcanzado;

j representa la diferencia entre el peso de grano o el porcentaje de aceite a RSI = 0 y RSI=∞

k es la curvatura exponencial de la respuesta.

Todas las ecuaciones se ajustaron usando el software Sigmaplot 8.0 (1986-2001, SPSS Inc.).

En base a los resultados del análisis de correlación entre el parámetro y de la Ecuación 3 hallado para PG y [A] (%) y la temperatura media se ajustó una ecuación que consideró el

efecto conjunto de la temperatura media y la radiación solar interceptada. Los valores estimados fueron comparados con valores observados para verificar la exactitud de la relación establecida.

Para identificar el mejor modelo se utilizó el Criterio de información de Akaike (AIC) (1974). Cuando se tiene una serie de modelos $M_1, M_2, \dots, M_n$ con parámetros $K_1, K_2, \dots, K_n$ respectivamente, frecuentemente se utiliza una metodología para compararlos basada en la función de máxima verosimilitud (likelihood). Esta función permite seleccionar el modelo que realiza el mejor ajuste de los datos, pero no penaliza su complejidad. En cambio, cuando se emplean medidas de contraste como el AIC al logaritmo de máxima verosimilitud se sustrae un término proporcional al número de parámetros (K) en el modelo. Este criterio es definido por la siguiente ecuación: $AIC = -2 * \log \text{Lik} + 2K$ (Statistical Analysis Systems, 2001).

CAPÍTULO 3

Variabilidad genética de la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna en híbridos de girasol alto oleico.

Los resultados presentados en este capítulo fueron publicados en Angeloni, PN., M.M. Echarte, G. Pereyra-Irujo, N.Izquierdo, L. Aguirrezábal. 2017. Field Crops Res 202:146-157.

Variabilidad genética de la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna en híbridos de girasol alto oleico.

3.1 INTRODUCCIÓN

En el capítulo anterior se describieron los experimentos, técnicas y análisis de datos utilizados para este y el próximo capítulo de la tesis (Capítulos 4).

En este capítulo se analiza la variabilidad genética de la respuesta del porcentaje de ácido oleico de híbridos de girasol con composición acídica mejorada a la temperatura mínima nocturna. Además, se identifican un bajo número de temperaturas y ambientes claves para el fenotipado del porcentaje de ácido oleico de híbridos alto oleico de girasol.

Para ello se plantean las siguientes hipótesis, las que fueron justificadas en la sección 1.4.1 del Capítulo 1:

Hipótesis 1: existe variabilidad genética en la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna de híbridos alto oleico portadores de la mutación Pervenets.

Hipótesis 2: un bajo número de temperaturas (≤ 3) permiten predecir el comportamiento de los híbridos en un amplio rango de temperaturas durante el llenado.

Para probar las hipótesis se definieron los siguientes *objetivos particulares*:

Objetivo 1: analizar la respuesta del porcentaje de ácido oleico de distintos híbridos de girasol con composición acídica mejorada a la temperatura mínima nocturna.

Objetivo 2: identificar las temperaturas que permiten reproducir la clasificación de los híbridos obtenida con un amplio rango de temperaturas mínimas nocturnas.

3.2 RESULTADOS

3.2.1 Composición ácida del aceite de híbridos de girasol con composición ácida mejorada.

En esta sección se presenta el análisis de las variaciones en los porcentajes de ácido esteárico, palmítico, oleico y linoleico de 17 cultivares alto oleico, en respuesta a cambios en la temperatura mínima nocturna. Los datos fueron obtenidos de experimentos de la Red Nacional de Evaluación de Cultivares Comerciales de Girasol del INTA (RNG). Los ensayos fueron realizados en diferentes localidades y años abarcando un rango de TMN entre 12,9 y 21,6 °C (Capítulo 2, sección 2.1.1)

La Figura 3.1 muestra la variación de los porcentajes de ácidos grasos (AG) con la TMN de todos los híbridos en conjunto. El ácido palmítico varía entre 2,5 y 5,9 y el ácido esteárico entre 0,2 a 6,1 % (Figura 3.1). Dentro del rango de TMN explorado, no se encontró correlación entre estos ácidos grasos y la TMN. El porcentaje de ácido oleico varió entre 68,5 y 94,2% con una tendencia creciente con el aumento de TMN. El ácido linoleico mostró una tendencia opuesta variando entre 0,8 y 15,3%. El porcentaje de ácido oleico se relacionó lineal y negativamente con el porcentaje de ácido linoleico ($r^2 > 0.99$, datos no presentados).

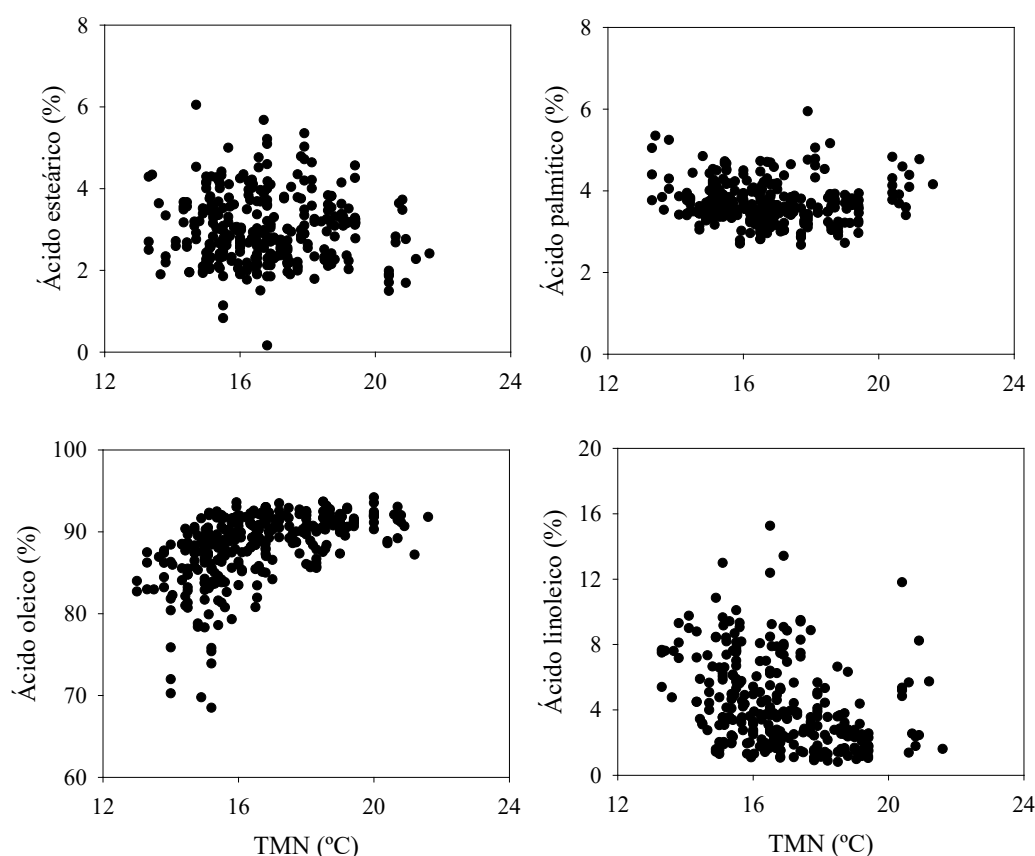


Figura 3.1 Relación entre el porcentaje de los ácidos grasos esteárico, palmítico, oleico y linoleico con la temperatura mínima nocturna (período 100-300 °Cd df) para 17 cultivares alto oleico de girasol. Los datos corresponden a la Red Nacional de Evaluación de Cultivares Comerciales de Girasol del INTA (RNG).

3.2.2 Efecto de la temperatura mínima nocturna sobre el porcentaje de ácido oleico de híbridos alto oleico.

Considerando la falta de respuesta de los AG saturados a la TMN y la fuerte correlación entre los ácidos oleico y linoleico, en adelante se estudiará exclusivamente la variabilidad de la respuesta del porcentaje de ácido oleico.

En esta sección se analiza la respuesta del porcentaje de ácido oleico de genotipos de girasol alto oleico a la temperatura mínima nocturna durante el período definido entre 100 y 300°Cd desde la floración durante el llenado de los granos.

3.2.2.1 Respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna para diferentes híbridos alto oleico

Se encontraron diferencias en el porcentaje de ácido oleico de los híbridos alto oleico estudiados, tanto en valores medios como en la estabilidad a través de diferentes ambientes (Figura 3.2 A). El comportamiento general de todos los híbridos mostró el incremento del porcentaje de ácido oleico con el incremento de la TMN y luego una saturación de la respuesta (Figura 3.2 B). La relación entre el porcentaje de ácido oleico y la temperatura, para el conjunto de los híbridos analizados, siguió una función sigmoidea, similar a la reportada por Izquierdo y Aguirrezábal (2008) con híbridos tradicionales (Ecuación 1, Capítulo 2, sección 2.1.4).

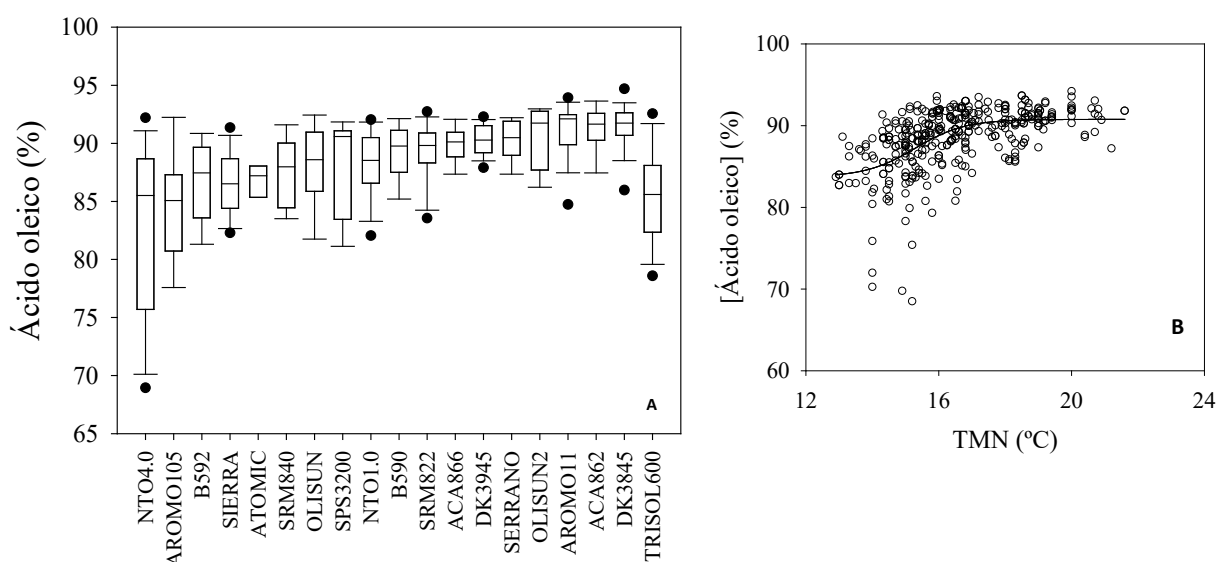


Figura 3.2 A: Boxplot del porcentaje de ácido oleico de diferentes híbridos alto oleico a través de ambientes. B: Porcentaje de ácido oleico de 17 híbridos alto oleico de girasol en la región girasolera de cultivo en Argentina. La línea continua representa el ajuste de la Ecuación 1 al conjunto de datos.

Sin embargo, una única función no describió con precisión la respuesta del ácido oleico a la TMN para todos los híbridos estudiados ($r^2 = 0,30$ Figura 3.2 B).

Las relaciones entre el porcentaje de ácido oleico y la TMN para cada híbrido (Figura 3.3) mostraron respuestas sigmoideas con diferencias en los parámetros de la función ajustada (máximos y mínimos valores, y la amplitud). El comportamiento sigmoideo fue observado en 12 de los 17 híbridos analizados. En 5 de ellos, el mínimo porcentaje de ácido oleico no fue alcanzado presumiblemente porque las TMN en las regiones de cultivo de girasol en Argentina no fueron lo suficientemente frías como para que algunos híbridos alcancen sus valores de y_0 . En esos casos, la parte superior de la curva sigmoidea pudo ser detectada (Figura 3.4) y se

consideró una restricción para el valor de y_0 ($70 < y_0 < 90$) para el ajuste de la función, basada en resultados de curvas completas obtenidas en los restantes híbridos.

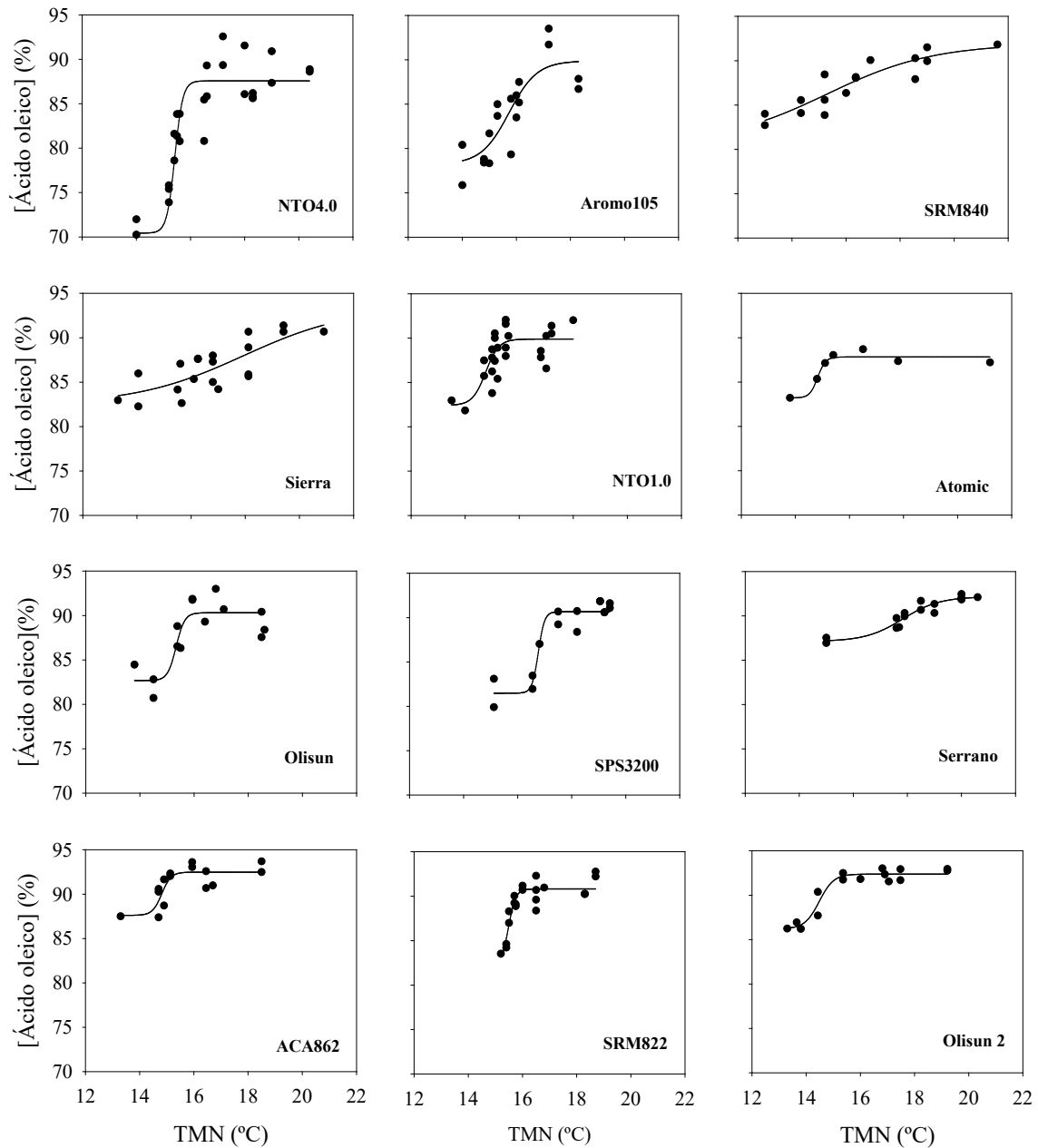


Figura 3.3 Porcentaje de ácido oleico en función de la temperatura mínima nocturna (TMN) durante el período 100-300°Cd desde floración para 12 híbridos alto oleico. La línea continua representa la Ecuación 1 ajustada al conjunto de datos experimentales de cada uno de los híbridos que muestran curvas sigmoideas completas.

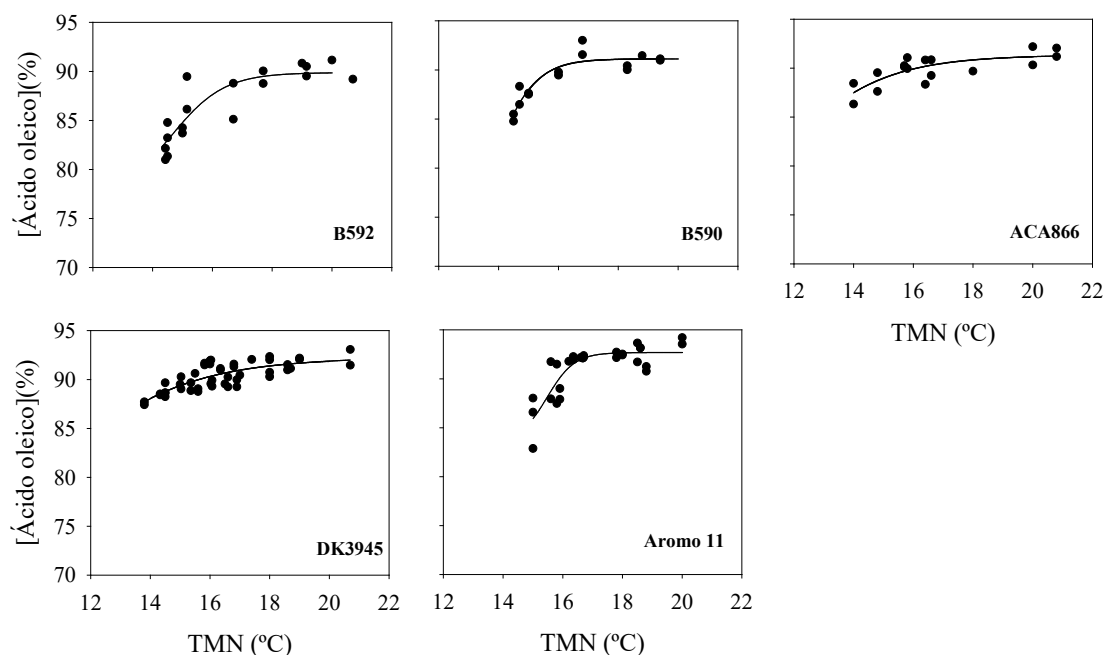


Figura 3.4 Porcentaje de ácido oleico en función de la temperatura mínima nocturna (TMN) durante el período 100-300°Cd desde floración para 5 híbridos alto oleico. La línea continua representa la Ecuación 1 ajustada al conjunto de datos experimentales de cada híbrido aplicando una restricción al valor de y_0 .

El incremento del porcentaje de ácido oleico en respuesta al aumento de las temperaturas mínimas nocturnas fue diferente entre cultivares. Se obtuvieron incrementos entre 5,5 (Atomic y Serrano) y 24 puntos de ácido oleico (NTO 4.0) alcanzando un porcentaje máximo que osciló entre 88,7 (Atomic) y 94,2% (Aromo11).

3.2.2.2 Variabilidad de la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna para híbridos alto oleico.

La variabilidad en las respuestas del porcentaje de ácido oleico a la TMN durante el llenado de granos se evidenció mediante el análisis de los parámetros del modelo ajustado a los datos de cada híbrido descriptos en el ítem 3.2.2.1.

Para esto, se compararon los valores de los parámetros mediante diagramas de cajas o boxplot (Capítulo 2, sección 2.1.4). El parámetro y_0 (mínimo porcentaje de ácido oleico) varió entre híbridos, desde 70,4% en el híbrido NTO 4.0 hasta 87,6% en ACA862 (Figura 3.5 A). En cuanto al máximo porcentaje de ácido oleico (y_{max}) (Figura 3.5 B) la variación fue entre 87,5%

(NTO 4.0) y 93,4 % (Sierra). Las diferencias fueron de hasta 17,2 puntos en y_0 y hasta 6 puntos en $y_{\max}$.

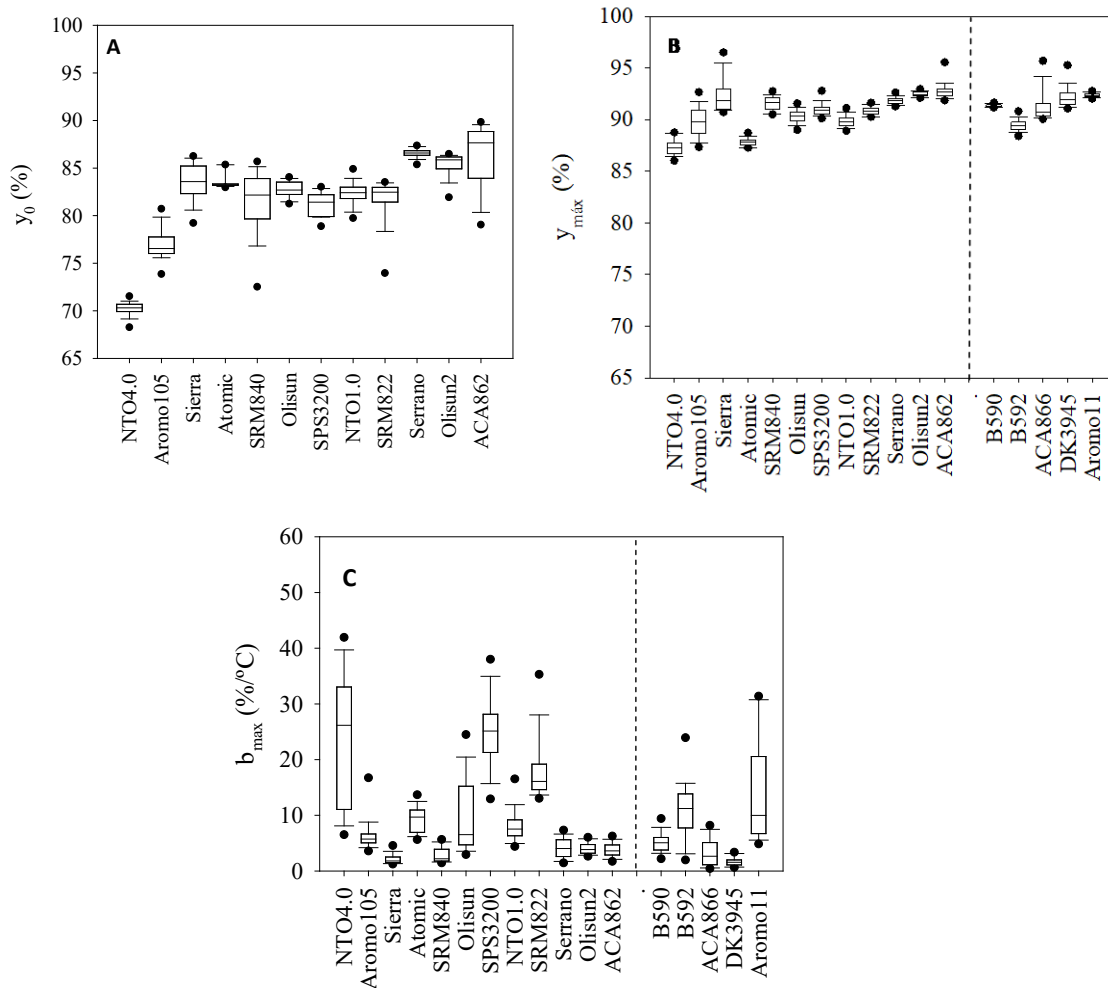


Figura 3.5 Boxplot de los parámetros de la Ecuación 1 ajustada a los datos experimentales. Los parámetros $y_{\max}$ y $b_{\max}$ fueron calculados según Izquierdo y Aguirrezábal (2008). La línea punteada separa los parámetros obtenidos para curvas completas de aquellos de curvas incompletas.

El incremento del porcentaje de ácido oleico en respuesta al aumento de las temperaturas mínimas nocturnas se produjo con diferentes pendientes (Figura 3.5 C). La mayor variabilidad entre los parámetros ajustados fue encontrada para $b_{\max}$, siendo la máxima pendiente de 28.5 %/°C para el híbrido NTO 4.0 mientras que la mínima correspondió a Sierra y SRM840 (1.4 %/°C). Por otro lado, no se encontró correlación entre $b_{\max}$ y cualquier otro parámetro de la función.

El porcentaje de ácido oleico del aceite de girasol se relacionó con la temperatura mínima nocturna (período 100-300°C ddf) según una función sigmoidea que crece desde un valor de oleico mínimo (y_0) a una temperatura t_{inf} , hasta un máximo valor ($y_{máx}$) a la temperatura t_{sup} . Las temperaturas t_{inf} y t_{sup} definen el rango de alta respuesta de la composición acídica a este factor.

Los rangos de temperaturas de la zona de alta respuesta (Figura 3.6) fueron similares a los observados en los híbridos tradicionales (9,4-23,8 °C). En los híbridos que mostraron curvas sigmoideas completas, el menor rango de respuesta (0,8 °C) se obtuvo para SRM822 y Atomic (Figura 3.6), mientras que el mayor rango se observó en los híbridos SIERRA y SRM840 (11,8°C, Figura 3.6). El 67% de los híbridos respondieron a la temperatura en un rango $\leq$ a 2°C, mientras que el 17% lo hizo en un rango $>$ a 10°C.

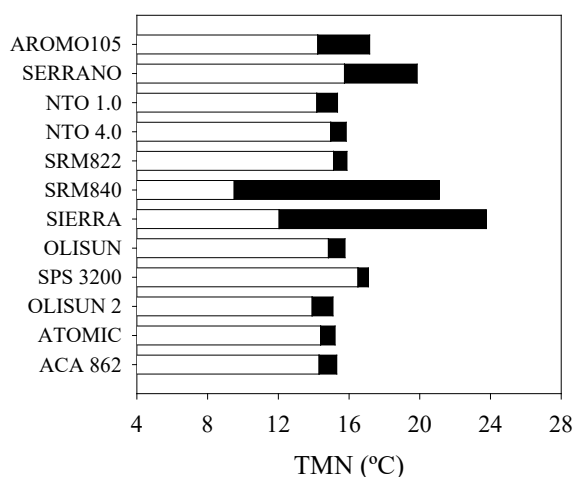


Figura 3.6 Rangos de alta respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna (100-300 °C ddf) definidos entre t_{inf} y t_{sup} en 12 híbridos alto oleico de girasol.

Considerando los límites del rango de alta respuesta, las diferencias fueron mayores en el límite superior que en el límite inferior. El superior varió entre 15,1°C para Olisun2 y 23,8°C para el híbrido Sierra, mientras que el inferior varió entre 9,4 (SRM840) y 16,5 °C (SPS3200).

El rango de variación en el porcentaje de ácido oleico (parámetro a) se correlacionó negativamente con el valor de y_0 ($r^2=0,85$), indicando que con menor porcentaje inicial de ácido oleico la amplitud de respuesta fue mayor (Figura 3.7). No se observó correlación de y_0 con la máxima pendiente ($r=0,24$). Tampoco se observó correlación entre otros parámetros.

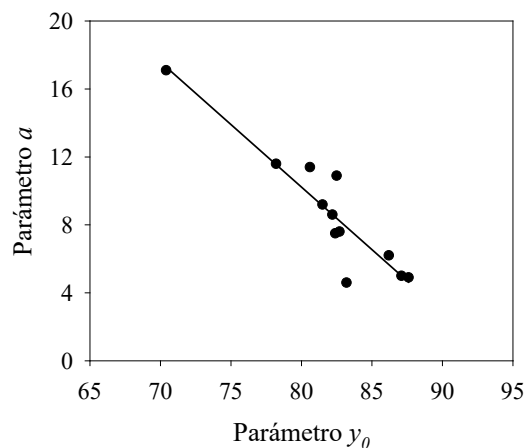


Figura 3.7. Relación entre el parámetro a (diferencia entre el máximo y el mínimo porcentaje de ácido oleico) y el parámetro y_0 (mínimo porcentaje de ácido oleico) correspondiente a las relaciones sigmoideas entre el porcentaje de ácido oleico y la temperatura mínima nocturna de 12 cultivares alto oleico.

3.2.2.3 Límites inferior y superior (t_{inf} y t_{sup}) del rango de alta respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna para híbridos alto oleico.

Para el conjunto de híbridos que mostraron curvas sigmoideas completas, la t_{inf} promedio fue de $14,1 \pm 1,9^\circ\text{C}$ y la t_{sup} promedio de $17,3 \pm 2,8^\circ\text{C}$. Con el fin de definir qué cantidad del total de híbridos analizados expresan su mínimo o su máximo porcentaje de ácido oleico a estas temperaturas cardinales promedios, se cuantificaron las diferencias entre los valores del parámetro y_0 de cada híbrido con respecto al valor estimado para la t_{inf} promedio, al igual que entre $y_{máx}$ y el $y_{máx}$ estimado a la t_{sup} promedio. En el caso del mínimo porcentaje de ácido oleico, se observó que el 50% de los híbridos alcanzan su valor de y_0 a la t_{inf} promedio ($14,1^\circ\text{C}$). El resto de los híbridos difieren hasta 4 puntos de ácido oleico con respecto al y_0 definido por la t_{inf} promedio. La máxima diferencia se registró para el híbrido SRM840 (Figura 3.8 A).

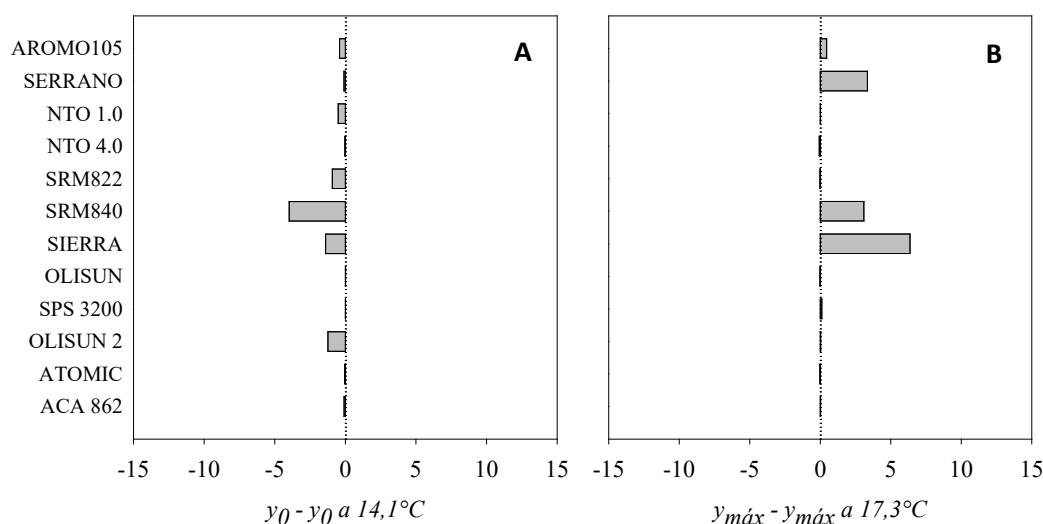


Figura 3.8. Diferencias entre $y_0 - y_0$ estimado a la t_{inf} promedio (A) y entre $y_{\text{máx}} - y_{\text{máx}}$ estimado a la t_{sup} promedio (B) para doce híbridos alto oleico.

Considerando el $y_{\text{máx}}$ definido por la t_{sup} promedio ($17,3^{\circ}\text{C}$), el 67% de los híbridos alcanza su máximo porcentaje de ácido oleico a esa temperatura, mientras que el resto difiere en hasta 6 punto de ácido oleico con respecto al $y_{\text{máx}}$ definido por la t_{sup} promedio. El híbrido Sierra expresó la mayor diferencia (6 puntos de oleico, Figura 3.8 B).

Los límites inferior y superior del rango de alta respuesta de las relaciones sigmoideas de híbridos alto oleico, se aplicaron en:

- 1) Distintas localidades ubicadas en cada una de las diferentes regiones de cultivo de girasol en la Argentina (Hall et al, 2013) y cuyas temperaturas mínimas nocturnas se conocen. Estos autores definieron ocho regiones que representan la diversidad climática, de suelos y manejo de las áreas actuales de cultivo. Ellas son: SEBA (SE de la provincia de Buenos Aires); SOBA (SO de la provincia de Buenos Aires); OBA (E de la provincia de Buenos Aires); CEBA (Centro de la provincia de Buenos Aires); SLLP (San Luis y La Pampa); CEAR (Centro de Argentina); ER (Entre Ríos) y NEAR (NE de Argentina).

2) Diferentes fechas de siembra que representan un rango dentro de cuatro regiones de cultivo de girasol, definidas por la latitud, y que poseen distintas temperaturas mínimas nocturnas (Pereyra-Irujo et al, 2009).

El 17% de los híbridos alto oleico estudiados alcanzan las mínimas concentraciones de ácido oleico (y_0) en localidades ubicadas entre 36° y 37° de latitud sur (regiones OBA y SEBA, Tabla 3.1). En las localidades estudiadas, las temperaturas mínimas nocturnas del período 100-300°C ddf, superan el límite inferior promedio del rango de alta respuesta (14,1 °C) de los híbridos analizados.

A partir de 15,5°C de temperatura mínima nocturna (región SEBA, Tabla 3.1) se alcanza el máximo porcentaje de ácido oleico ($y_{\max}$) en el 25% de los híbridos alto oleico analizados. El mayor porcentaje de híbridos (92%) alcanzarían su $y_{\max}$ en la región NEAR (latitud 26°S).

Localidad	Latitud	Región Hall et al. 2013	TMN (°C)	% de híbridos que alcanzan su y_0	% de híbridos que alcanzan su $y_{\max}$
Balcarce	37	SEBA	15,5	17	25
Bellocq	36	OBA	15,6	17	42
Barrow	38	SOBA	16	8	58
Anguil	36	SLLP	16,6	0	58
Manfredi	32	CEAR	16,8	0	58
Pergamino	33	CEBA	17,6	0	75
Paraná	32	ER	18,1	0	75
Reconquista	29	NEAR	19,1	0	75
SP	26	NEAR	21,4	0	92

Tabla 3.1. Regiones definidas según Hall et al. (2013) con sus correspondientes temperaturas mínimas nocturnas (100-300°Cd df). Porcentaje de híbridos alto oleico respecto de los 12 híbridos estudiados que alcanzan su mínimo y máximo porcentaje de ácido oleico.

Al considerar las diferentes fechas de siembra, entre el 42 y 75% de los híbridos estudiados alcanzarían su mínimo porcentaje de ácido oleico en las fechas de siembra de la región sur (37-39° latitud Sur) (Tabla 3.2). En esta región ningún híbrido alcanzaría su máximo porcentaje de ácido oleico, mientras que en las regiones latitudes menores a 33°S no se alcanzarían los mínimos porcentajes de ácido oleico. En estas regiones es posible alcanzar los máximos porcentaje de ácido oleico. Para las siembras intermedias y tardías el 75% de los híbridos estudiados alcanzarían su y_{máx}.

Región *	Latitud Sur (°)	Fecha de Siembra	TMN (100-300 °Cddf) (°C)	% de híbridos en y ₀	% de híbridos en y _{máx}
Norte	23-30	Temprana	16,5	8,00	58
		Intermedia	17,5	0	75
		Tardía	19,8	0	75
Centro Norte	30-33	Temprana	16,7	0	58
		Intermedia	17,5	0	75
		Tardía	17,6	0	75
Centro Sur	33-37	Temprana	15,5	17	33
		Intermedia	15,8	17	58
		Tardía	15,2	25	8
Sur	37-39	Temprana	14,5	42	0
		Intermedia	14,6	42	0
		Tardía	13,8	75	0

Tabla 3.2. Regiones y fechas de siembra de acuerdo a Pereyra-Irujo et al (2009) con sus correspondientes temperaturas mínimas nocturnas (TMN °C). Porcentaje de híbridos alto oleico respecto de los 12 híbridos estudiados que alcanzan su mínimo y máximo porcentaje de ácido oleico.

3.2.3 Un meta-mecanismo como herramienta para identificar un bajo número de temperaturas para fenotipar la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna.

Los híbridos analizados fueron ordenados de acuerdo con sus valores promedios de porcentaje de ácido oleico, considerando también su variabilidad (Figura 3.9). El resultado de esta clasificación fue obtenido utilizando curvas de respuesta ajustadas entre 14,0 y 20,5 °C (Capítulo 2, sección 2.1.4, Figuras 3.3 y 3.4).

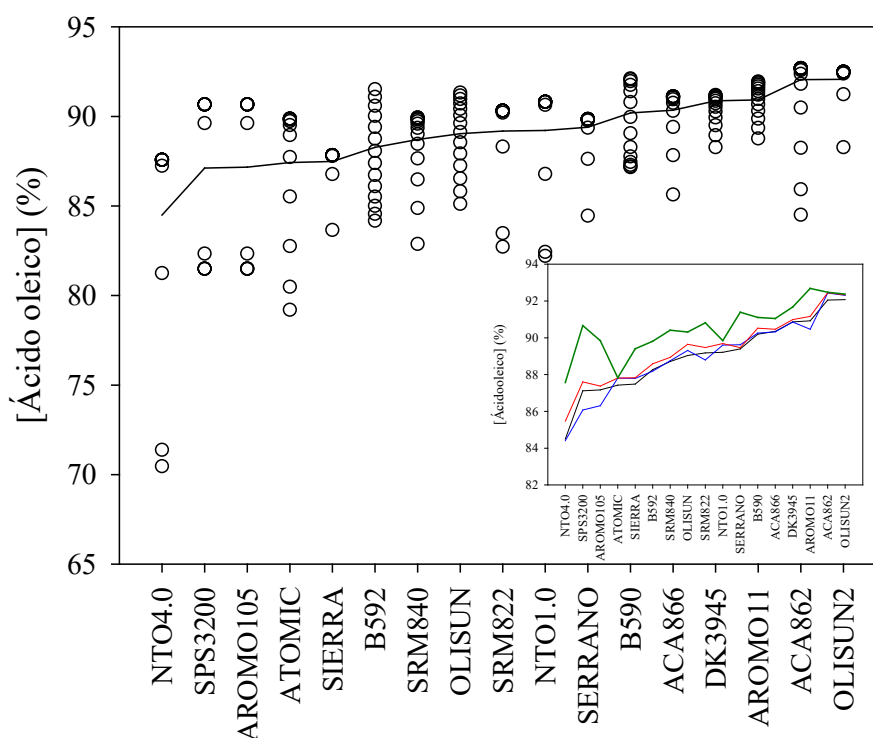


Figura 3.9. Valores teóricos de porcentaje de ácido oleico de los diferentes híbridos. Los híbridos fueron ordenados de acuerdo al valor medio de los datos simulados obtenidos con la Ec 1, de menor a mayor (línea continua). Los símbolos representan el porcentaje de ácido oleico estimado a diferentes temperaturas cada 0,5°C entre 14,0 y 20,5°C. Inserto: Las líneas continuas representan el porcentaje medio de ácido oleico estimado: considerando todas las temperaturas (línea negra), a la temperatura de 19°C (línea verde), combinando dos temperaturas 15,5-20,0°C (línea azul) y tres temperaturas 15,5-17,5-20,5 (línea roja).

Con el fin de determinar si un pequeño conjunto de experimentos sería capaz de reproducir la clasificación obtenida con toda la curva, se probaron las clasificaciones obtenidas para cada temperatura o para diferentes combinaciones entre 2 ó 3 temperaturas. Para ello, se compararon los valores promedio de porcentaje de ácido oleico obtenidos a una, dos o tres temperaturas con los valores promedios de ácido oleico obtenidos con la curva completa. Para una temperatura individual, el mayor r^2 fue obtenido a 19°C ($r^2=0.837$). Cuando se consideró el porcentaje de ácido oleico promedio estimado combinando dos o tres temperaturas, las mejores combinaciones fueron 15,5-20,0 °C y 15,5-17,5-20,5°C, según sus valores de correlación (0,969 y 0,993, respectivamente).

3.3 DISCUSIÓN

En este capítulo se estudió la respuesta del porcentaje de ácido oleico del aceite a la temperatura en distintos híbridos de girasol con composición acídica mejorada para un amplio rango de temperaturas logradas con experimentos en el campo en diferentes localidades y años. Estas localidades cubren gran parte de la zona de cultivo de girasol en la Argentina. Entre los híbridos analizados fue posible encontrar variabilidad genética tanto del ácido oleico como de su estabilidad entre diferentes ambientes.

La caracterización de la composición acídica del conjunto de híbridos analizados y experimentos mostró un aumento del porcentaje de ácido oleico con el incremento de la temperatura mínima nocturna, mientras que para el ácido linoleico la relación fue inversa. En cuanto a los ácidos grasos saturados su porcentaje no se modificó por efecto de la temperatura mínima nocturna. El incremento del porcentaje de ácido oleico se asocia principalmente con la disminución del porcentaje de ácido linoleico, aunque se han reportado reducciones en los ácidos grasos saturados principalmente debido a la disminución del ácido esteárico (Izquierdo y Aguirrezábal, 2008).

La relación del porcentaje de ácido oleico con la temperatura mínima nocturna fue estudiada mediante una ecuación robusta y bien validada, previamente establecida para híbridos de girasol tradicionales (Izquierdo y Aguirrezábal, 2008). Al analizar la respuesta a la temperatura mínima nocturna de todos los híbridos juntos, se observó que respondieron según una función sigmoidea. Sin embargo, una única función explicó solamente una baja proporción de la variación del porcentaje de ácido oleico entre los 17 híbridos estudiados. En concordancia con los resultados obtenidos en híbridos tradicionales, al analizar individualmente cada híbrido alto oleico, el modelo sigmoideo explicó una mayor proporción de la variación del porcentaje de ácido oleico en todos los híbridos estudiados.

Los resultados analizados en este capítulo provenían de experimentos realizados en distintas localidades y años que representan diferentes condiciones ambientales. Sin embargo, las variaciones en el porcentaje de ácido oleico de todos los híbridos fueron bien explicadas por la temperatura mínima nocturna. De acuerdo al patrón de respuesta encontrado, las mayores concentraciones de ácido oleico se obtuvieron con las mayores temperaturas mínimas nocturnas ensayadas. Estas temperaturas corresponden a localidades situadas al norte del país. La disminución del porcentaje de ácido oleico como consecuencia de la menor TMN fue observada por varios autores para otros genotipos alto oleico de girasol portadores de la mutación *Pevenets* (Grunvald et al., 2013; Izquierdo y Aguirrezábal, 2008; Flagella et al., 2002; Alberio et al., 2016) y en una línea alto esteárico alto oleico (Izquierdo et al, 2013) con la misma mutación. Por el contrario, una línea portadora de una nueva mutación alto oleico no fue afectada por los cambios en la temperatura (Alberio et al, 2016).

La mayor variabilidad en la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura se encontró para el parámetro $b_{\max}$, seguido de y_0 , siendo el parámetro $y_{\max}$ el menos variable. En concordancia con los resultados obtenidos en esta tesis, para la mínima concentración de ácido oleico, en híbridos tradicionales se observó un rango de variación semejante (15-20 puntos de ácido oleico, Izquierdo y Aguirrezábal, 2008; 22 puntos, Izquierdo et al, 2006; 17 puntos para híbridos alto oleico en esta tesis).

En discrepancia con la menor variación observada para $y_{\max}$ (6 puntos de ácido oleico) en los híbridos alto oleico de esta tesis, en otros tipos de híbridos como ser tradicionales, se reportaron variaciones acentuadas de este parámetro (16,7 puntos; Izquierdo y Aguirrezábal, 2008).

La mayor variabilidad encontrada para $b_{\max}$ muestra las diferencias en la sensibilidad de la respuesta a la temperatura entre los híbridos alto oleico estudiados en esta tesis. La variabilidad en este parámetro también fue observada en híbridos tradicionales (Izquierdo y Aguirrezábal, 2008), y en genotipos alto oleico que portan diferentes mutaciones (Alberio *et al.*, 2016). Si bien se había reportado una menor respuesta a los factores ambientales en los cultivares alto oleico con respecto a los tradicionales (Izquierdo et al., 2002; Izquierdo y Aguirrezábal, 2008; Oliva et al., 2006), algunos híbridos estudiados en esta tesis (por ejemplo, NTO4.0 y SPS3200) mostraron mayor $b_{\max}$ que todos los híbridos tradicionales estudiados por Izquierdo y Aguirrezabal (2008), lo cual evidencia la fuerte respuesta a la temperatura que puede encontrarse en algunos híbridos alto oleico portadores de la mutación *Pervenets*.

En este capítulo, se generó una clasificación teórica mediante el ajuste de una función sigmoidea para la respuesta de AO a la TMN en diferentes híbridos y promediando los datos de cada híbrido a través de un amplio rango de ambientes. Asimismo, y con la misma función

sigmoidea, se obtuvo una clasificación también para temperaturas individuales o para la combinación de dos o tres temperaturas y se compararon con la clasificación teórica. De esta manera, fue posible encontrar un bajo número de ambientes capaces de reproducir la clasificación obtenida con un amplio rango de temperaturas. Estos resultados son sumamente interesantes para la realización de planes de mejoramiento de la calidad del aceite. En este sentido, para la evaluación de diferentes híbridos alto oleico son necesarios ensayos replicados en múltiples ambientes y varias campañas, siendo un trabajo laborioso. Así, utilizando pocos ambientes (2 ó 3) en los que, durante el llenado de granos, ocurra la combinación de las temperaturas mínimas nocturnas definidas, se podría estimar el comportamiento de los híbridos. El fenotipado utilizando estas temperaturas agilizaría y facilitaría una evaluación más precisa del comportamiento reduciendo la necesidad de repetir los ensayos en varias zonas.

A partir de valores promedios de t_{inf} y t_{sup} fue posible definir valores de temperatura en los que se obtienen mínimas (y_o) y máximas ($y_{máx}$) concentraciones de oleico. La determinación de valores de temperatura que aseguran la obtención de porcentajes mínimos o máximos de ácido oleico permite definir zonas específicas en base a sus condiciones termales donde pueden desarrollarse estrategias de mejoramiento para alcanzar una calidad deseada (Aguirrezabal et al, 2009). En tal sentido, la regionalización de la Argentina realizada por Hall et al (2013) resultó de utilidad. Del conjunto de híbridos alto oleico estudiados en este capítulo sólo un 17 % alcanza su mínimo porcentaje de ácido oleico y en localidades situadas entre 36° y 37° de latitud sur. Hacia menores latitudes es posible que se incremente la obtención de máximos porcentajes de ácido oleico, siendo la región NEAR (latitud 26°S) con temperaturas mínimas nocturnas de 21,4°C donde el 92% de híbridos alcanzaron su $y_{máx}$.

También es importante tener en cuenta la fecha de siembra cuando se intenta mejorar los porcentajes mínimos y máximos de oleico ya que ésta modifica la temperatura mínima nocturna durante el período crítico. Para las mismas fechas de siembra y regiones consideradas al analizar la variabilidad de la calidad de aceite para la producción de biodiesel (Pereyra-Irujo et al, 2009), las siembras tardías en la región sur ($\geq 37^\circ$ latitud S) permiten que el 75% de los híbridos estudiados alcancen su mínimo porcentaje de ácido oleico. No obstante, esto no sería posible para ninguna de las fechas de siembra en regiones situadas entre 23 y 33° de latitud. Para estas regiones, las siembras intermedias y tardías permiten que un alto porcentaje de híbridos (75%) alcancen su máximo porcentaje de ácido oleico.

3.4 CONCLUSIÓN

El porcentaje de ácido oleico de cultivares con composición acídica mejorada responde de manera sigmoidea a la temperatura mínima nocturna. Existe variabilidad genética de la respuesta del porcentaje de ácido oleico de híbridos alto oleico de girasol a la temperatura comparable a la reportada para híbridos tradicionales. Además, se identificaron las temperaturas y que permiten fenotipar la composición acídica en condiciones controladas y en el campo.

CAPÍTULO 4

Efecto conjunto de la temperatura y la radiación solar interceptada sobre la respuesta del peso y porcentaje de aceite de los granos.

Efecto conjunto de la temperatura y la radiación solar interceptada sobre la respuesta del peso y porcentaje de aceite de los granos.

4.1 INTRODUCCIÓN

En el capítulo anterior se estudió la respuesta del porcentaje de ácido oleico al efecto conjunto de la temperatura y radiación solar interceptada en un híbrido tradicional de girasol y se demostró que los efectos de estos factores son aditivos. Además, se comprobó que existe variabilidad de esta respuesta al analizar el modelo aditivo en otro híbrido tradicional de girasol.

En el marco de los escasos estudios realizados para el efecto de la temperatura sobre el peso y porcentaje de aceite y siguiendo el análisis de los efectos conjuntos abordado en el capítulo 4 para el porcentaje de ácido oleico, en este capítulo se presentan los avances en el estudio del efecto individual y conjunto de la temperatura y la radiación solar interceptada sobre el peso y porcentaje de aceite de granos de genotipos de girasol tradicional. Para ello se realizaron experimentos tanto en cámaras de crecimiento como en el campo (en diferentes años y localidades) tal como se describió en el Capítulo 2, sección 2.2.1.

Las hipótesis planteadas en la sección 1.4.2 del Capítulo 1, son las siguientes:

Hipótesis 3: una única expresión funcional caracteriza la respuesta del peso o del porcentaje de aceite de granos de diferentes genotipos de girasol tradicional a partir de la temperatura media durante el llenado de los granos

Hipótesis 4: los efectos de la temperatura sobre el peso y el porcentaje de aceite podrían estar solamente mediados por una menor acumulación de RSI como consecuencia del acortamiento del período de llenado.

Para probar las hipótesis se definieron los siguientes *objetivos particulares*:

Objetivo 3: Caracterizar la respuesta del peso y el porcentaje de aceite de diferentes genotipos de girasol tradicional a la temperatura media durante el llenado de los granos.

Objetivo 4: conocer si los efectos de la temperatura sobre el peso o el porcentaje de aceite son mediados solamente por el efecto que ésta produce sobre la duración del período crítico (menor RSI a mayor temperatura).

4.2 RESULTADOS

4.2.1. Temperatura

4.2.1.1 Experimentos en cámaras de crecimiento

Se evaluó el efecto de la temperatura media diaria en condiciones de radiación incidente controlada durante el llenado de los granos (TM) en un rango comprendido entre 15 y 25°C para tres genotipos tradicionales (ACA885, DK3820 y DK3881)

4.2.1.1.1 Peso final de los granos

Se analizó la dependencia del peso final de los granos con la temperatura media del llenado para los experimentos realizados en cámaras de crecimiento (Figura 4.1). La relación entre el peso de los granos (PG) y la TM fue descrita por una función de tipo plateau + lineal para todos los híbridos ensayados (Ecuación 2, Capítulo 2, sección 2.2.4):

$$PG = m+n \text{ cuando } TM < t; m+nTM \text{ cuando } TM > t \quad \text{Ecuación 2}$$

donde t representa el punto de inflexión de la función y n la pendiente

Los ajustes de esta función a los resultados experimentales permitieron definir un rango de temperaturas en el cual no se registró variación en el peso final de los granos, seguida de una disminución del mismo con el incremento de la temperatura (Figura 4.1).

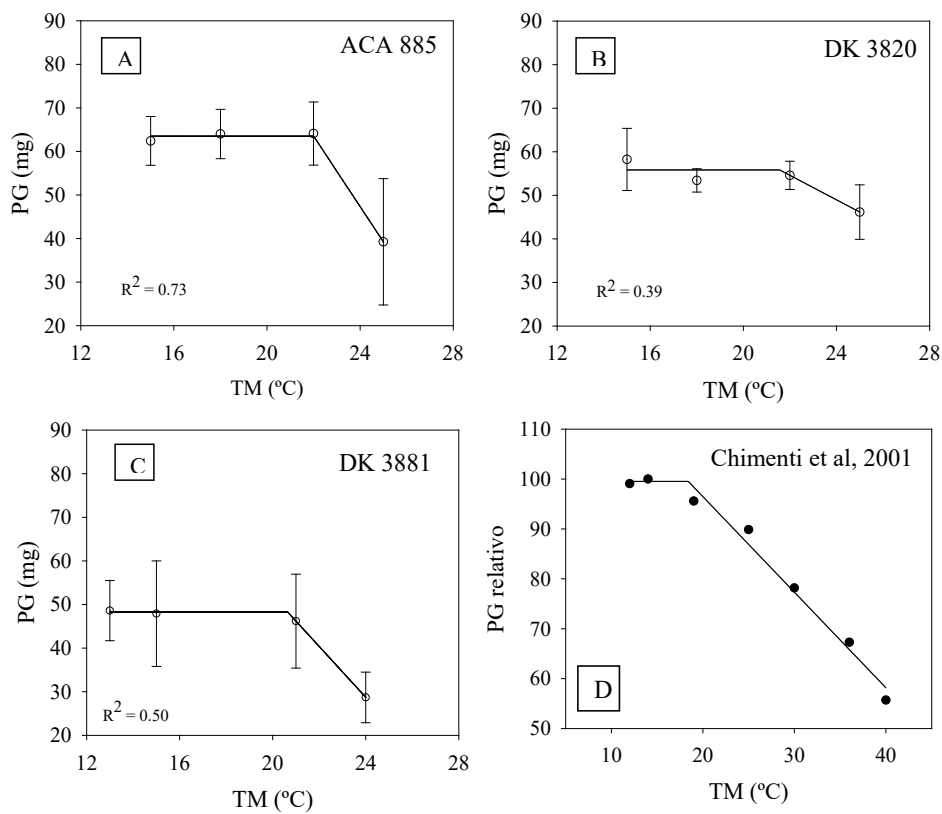


Figura 4.1. Peso de los granos (PG) en función de la temperatura media diaria (TM) para híbridos de girasol tradicionales (ACA885, DK3820 y DK3881) (Paneles A, B y C). Experimentos realizados en cámaras de crecimiento. Las barras verticales representan el desvío estándar de la media. El panel D muestra datos adaptados de Chimenti et al (2001). La línea continua representa la Ecuación 2 ajustada a los datos experimentales.

Según los resultados encontrados en esta tesis, el peso de los granos de híbridos tradicionales se mantuvo constante hasta 21-22°C. Superado este valor, por cada 1°C de incremento en la temperatura, la ecuación ajustada predijo en ACA885 una disminución promedio de 8,1 mg lo que representa el 12,7% de su peso máximo. En DK3820 la disminución fue de 3 mg por cada 1°C, representando el 5,5 % la disminución por cada 1°C de aumento en la temperatura. En DK3881 disminuyó 6,5 mg siendo del 13,5% la disminución por cada 1°C de aumento en la temperatura.

La misma ecuación se ajustó a los resultados obtenidos para el peso de embriones por Chimenti *et al.* (2001). Para esto, el peso de los embriones fue transformado en peso de grano como se describe en Capítulo 2 (sección 2.2.4) observándose una respuesta similar a la encontrada para los híbridos estudiados en esta tesis (Figura 4.1), con un punto de inflexión a 18°C.

4.2.1.1.2 Porcentaje de aceite de los granos

La relación entre [A] y TM fue adecuadamente descrita por la misma expresión matemática establecida para la respuesta del peso de los granos a la temperatura media (Ecuación 2).

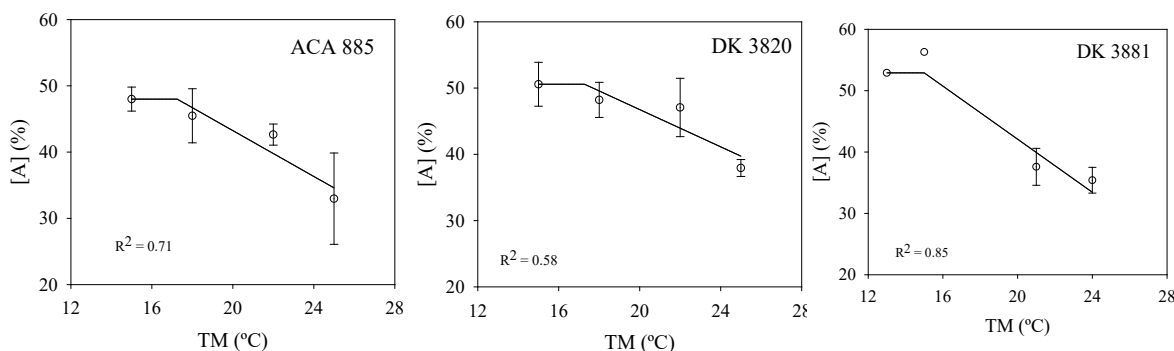


Figura 4.2. Porcentaje de aceite [A] (%) en función de la temperatura media diaria (TM) durante el llenado de los granos para híbridos de girasol tradicional (ACA885, DK3820 y DK3881) cultivados en cámaras de crecimiento. Las barras verticales representan el desvío estándar de la media. La línea continua representa la Ecuación 2 ajustada a los datos experimentales.

En todos los híbridos, el porcentaje de aceite mostró una fase constante a bajas temperaturas, seguida de una fase lineal decreciente en respuesta al incremento de las temperaturas medias estudiadas (Figura 4.2). El porcentaje de aceite se mantuvo constante hasta 15°C en DK3881 y hasta 17°C en ACA 885 y DK 3820.

También se observaron diferencias en la disminución de la variable por efecto de la temperatura. Por cada 1°C de incremento el porcentaje de aceite en ACA885, en promedio, se redujo 1,9%, 1,6% de aceite en DK 3820 y en DK3881 la disminución fue de 1,9% de aceite.

4.2.1.1.3 Análisis de los parámetros de respuesta del peso de los granos y el porcentaje de aceite a la temperatura

La Tabla 4.1 muestra los valores de los parámetros de los ajustes de la Ecuación 2 a los diferentes sets de datos. Si bien el patrón de respuesta en todos los híbridos fue el mismo, se encontraron diferencias en los parámetros entre los genotipos estudiados. Así para el valor del plateau del peso de granos se registraron diferencias de hasta 15,2 mg mientras que para el porcentaje de aceite hasta 5 puntos porcentuales. El híbrido ACA885 presentó el mayor valor de plateau para el peso de los granos y el más bajo para porcentaje de aceite.

En todos los híbridos, la temperatura en el punto de inflexión para el porcentaje de aceite fue menor que la del peso de los granos, indicando que [A] es más sensible a los efectos de la temperatura. Las diferencias registradas en el punto de inflexión entre híbridos fueron de hasta 1,4°C para el peso de granos y de hasta 2,2°C para el porcentaje de aceite. En cuanto a la pendiente de la respuesta a altas temperaturas, las mayores variaciones entre genotipos se observaron en el peso de los granos. Mediante el cálculo de los límites inferior y superior del intervalo de confianza para cada híbrido se observó el solapamiento de los parámetros del plateau y el punto de inflexión. Sólo en las pendientes hay diferencias significativas.

VARIABLE	HIBRIDO	Plateau (m)	Punto de inflexión (t)	Pendiente (n)
Peso de granos	ACA 885	63,5 ± 7,2	22 ± 0,8	- 8,0 ± 0,002
	DK 3820	55,3 ± 7,1	21,7 ± 1,0	-2,8 ± 0,9
	DK 3881	48,3 ± 12,1	20,6 ± 1,1	-5,8 ± 2,3
Porcentaje de aceite	ACA 885	47.9 ± 1.8	17.2 ± 2.6	-1.7 ± 0.6
	DK 3820	50.6 ± 3.3	16.9 ± 1.2	-1.3 ± 0.2
	DK 3881	52.9 ± ND	15 ± 3.2	-2.2 ± 0.7

Tabla 4.1. Parámetros de la Ecuación 2 ajustada para experimentos en cámaras de crecimiento. Valores de plateau correspondientes a peso de los granos y porcentaje de aceite para híbridos de girasol tradicional (ACA885, DK3820 y DK 3881).

4.2.1.2 Experimentos en el campo

Se realizaron experimentos en el campo con el objeto de ampliar el rango de temperaturas medias y niveles de radiación incidente logrados en las cámaras de crecimiento, y así validar el modelo establecido con información obtenida en los experimentos en condiciones controladas, en plantas cultivadas en condiciones naturales. Se sembraron tres genotipos de girasol tradicional (ACA885, DK3820 y DK3881) en diferentes años y localidades (Capítulo 2, sección 2.2.1). Las localidades abarcaron una extensión geográfica desde 26°S hasta 37°S y fueron representativas de las regiones en las que normalmente se cultiva el girasol en Argentina. El

rango de temperaturas medias diarias durante el llenado de los granos evaluado en estos ensayos varió desde 16,6 a 26,8°C, extendiendo el límite superior de las temperaturas exploradas en cámaras de crecimiento (25°C).

4.2.1.2.1 *Peso final de los granos*

El peso de los granos de plantas cultivadas en condiciones de máxima radiación en los diferentes años y localidades fue analizado en función de la TM durante el período de llenado (Figura 4.3). Estos valores mostraron un comportamiento globalmente similar a los resultados de experimentos de cámara para todos los híbridos ensayados. La Figura 4.3 muestra los datos individuales de los experimentos en el campo superpuestos sobre las funciones descriptas en la Figura 4.1. En general, los resultados registrados en el campo se ubicaron dentro del intervalo de confianza (95%) del modelo obtenido para las experiencias en cámaras. Los menores pesos de grano obtenidos en el campo correspondieron a las mayores temperaturas medias durante el período de llenado.

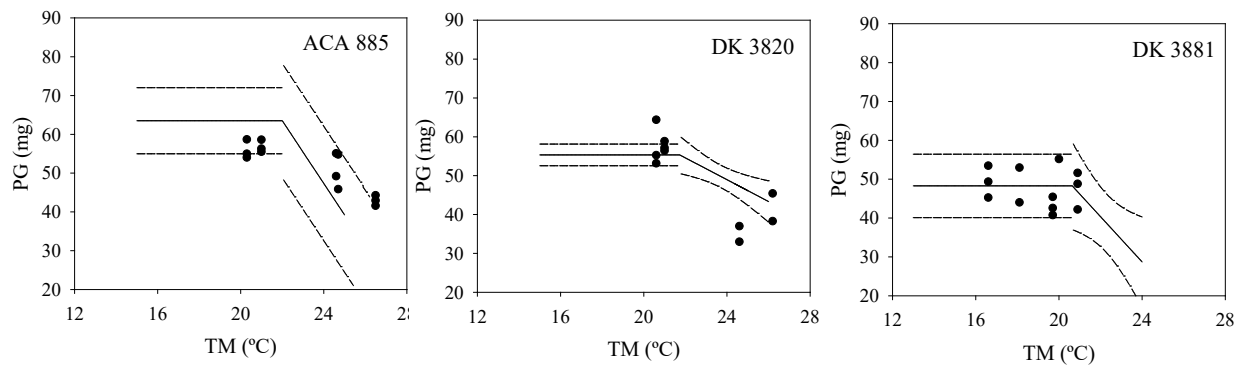


Figura 4.3. Peso de los granos (PG) en función de la temperatura media diaria (TM) durante el llenado de los granos para híbridos de girasol tradicional (ACA885, DK3820 y DK3881). Los símbolos negros corresponden a los tratamientos testigo de los experimentos en el campo. La línea continua representa el ajuste de la Ecuación 2 a los datos obtenidos en experimentos en cámaras de crecimiento, las líneas punteadas representan los límites inferior y superior del intervalo de confianza (95%).

4.2.1.2.2 Porcentaje de aceite de los granos

El porcentaje de aceite de los granos de plantas cultivadas en condiciones de máxima radiación en los diferentes años y localidades, fue analizado en función de la TM. La respuesta de este carácter fue del tipo plateau+lineal. En la mayor parte de los casos, el porcentaje de aceite se ubicó dentro de los límites del intervalo de confianza (95%) de la función plateau+lineal del modelo establecido en las cámaras de crecimiento (Figura 4.4).

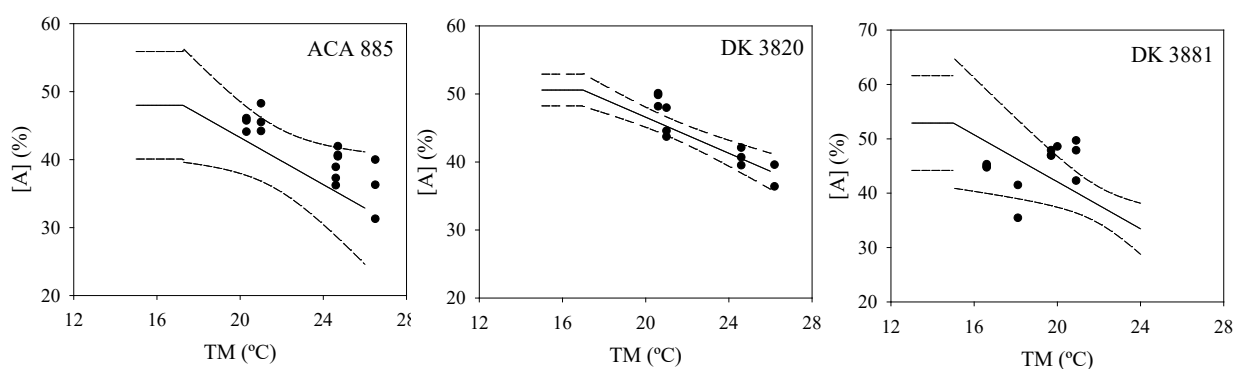


Figura 4.4 Porcentaje de aceite [A] (%) en función de la temperatura media diaria (TM) durante el llenado de los granos para híbridos de girasol tradicional (ACA885, DK3820 y DK3881). Los símbolos negros corresponden a los tratamientos testigo de los experimentos en el campo. La línea continua representa el ajuste de la Ecuación 2 a los datos obtenidos en experimentos en cámaras de crecimiento, las líneas punteadas representan los límites inferior y superior del intervalo de confianza (95%).

4.2.2. Radiación solar interceptada

Hasta aquí se investigó la respuesta del peso y porcentaje de aceite de los granos a la temperatura media. Con el objeto de elucidar si el efecto de la temperatura media sobre el peso y el porcentaje de aceite de los granos de girasol responde exclusivamente a cambios en la radiación solar interceptada durante el período crítico o si existe un efecto directo de la temperatura sobre estos componentes, se caracterizaron sus respuestas a la radiación solar interceptada a diferentes temperaturas.

Para ello se realizaron experimentos en los que se modificó la radiación solar interceptada por planta en el campo en diferentes años y localidades, tal como se describió en el Capítulo 2, sección 2.2.1. Se analizó en primer lugar el efecto de los tratamientos aplicados y luego se

caracterizó la respuesta de PG y [A] (%) a la radiación solar interceptada, considerando tanto la RSI acumulada dentro de los límites térmicos fijados para el período crítico 250-450°Cd df (Aguirrezábal *et al.*, 2003) como durante todo el llenado de los granos.

4.2.2.1 Efecto de la radiación solar interceptada sobre el peso final y el porcentaje de aceite de los granos

Los tratamientos de radiación aplicados modificaron los componentes del rendimiento en todos los genotipos, localidades y años ensayados (Tablas 4.2 y 4.3). Al aumentar la cantidad de radiación solar interceptada por las plantas durante el llenado de granos, se observaron incrementos en el peso de los granos y el porcentaje de aceite. Las diferencias entre tratamientos fueron estadísticamente significativas para todos los experimentos y componentes de rendimiento ($p < 0.05$).

Considerando el peso de los granos, el mayor valor fue obtenido para el híbrido ACA885 ($65,7 \pm 3,1$ mg) en el experimento B2 y para el tratamiento que permitió acumular la mayor radiación solar interceptada (Tabla 4.2). Las diferencias entre tratamientos extremos (R y S80%) oscilaron entre 7,4 (híbrido ACA885, experimento SP1) y 25,6 mg (híbrido ACA885 experimento B2) (Tabla 4.2).

Al igual que para el peso de los granos, el porcentaje de aceite obtenido fue mayor en los tratamientos que aumentaron la radiación solar incidente (R). El mayor valor le correspondió al híbrido DK3820 ($57,0 \pm 0,7$ %) en el experimento B2 (Tabla 4.3). Las diferencias en el porcentaje de aceite registradas entre tratamientos extremos variaron de 5,7 (ACA885 experimento P) a 22,4 puntos de aceite (DK3820 experimento SP1) (Tablas 4.2 y 4.3 respectivamente).

Experimento	T	RSI (MJ pta ⁻¹)	PG	[A]
SP1	R	18,1 ± 3,7	43,8 ± 3,7	41,3 ± 4,2 a
	T	12,6 ± 1,3	42,9 ± 1,3	38,1 ± 2,6 ab
	S 50%	7,2 ± 0,3	38,6 ± 0,3	33,4 ± 3,2 ab
	S 80%	2,8 ± 0,4	36,4 c	28,2 b
SP2	R	21,6 ± 3,6	47,4 ± 1,5	37,5 ± 2,2 a
	T	14,3 ± 0,6	52,1 ± 4,2	37,5 ± 1,3 a
	RS 50%	8,7 ± 0,5	37,6 ± 7 b	32,1 ± 1,0 b
	S 50%	6,0 ± 0,5	33,7 ± 2,9	32,0 ± 2,1 b
	S 80%	3,6 ± 0,1	38,0 ± 4,9	31,2 ± 1,7 b
P	R	28,7 ± 3,1	45,1 ± 3,3 b	42,7 ± 4,5 a
	T	17,7 ± 1,25	50,3 ± 6,3 a	41,05 ± 0,81 ab
	RS 50%	11,5 ± 2,1	48,5 ± 3,2	39,0 ± 2,8 ab
	S 50%	7,2 ± 1,3	45,3 ± 2,3 b	37,7 ± 0,24 ab
	S 80%	3,4 ± 0,2	38,5 c	37,01 b
B1	R	30,5 ± 1,4	56,6 ± 2,4	46,0 ± 1,4 a
	T	20,5 ± 0,5	56,0 ± 2,4	45,3 ± 1,1 a
	S 50%	10,1 ± 0,3	44,6 ± 3,3	42,5 ± 0,9 b
	S 80%	5,8 ± 0,5	38,3 ± 5,6	38,7 ± 1,7 c
B2	R	42,4 ± 0,1	65,7 ± 3,1 a	45,8 ± 1,7 a
	T	21,1 ± 1,7	57,4 ± 1,7	46,0 ± 2,1 a
	RS 50%	10,1 ± 0,004	51,4 ± 6,4	42,7 ± 3,0 b
	S 50%	8,4 ± 0,1	45,5 ± 2,5	41,5 ± 2,7 b
	S 80%	4,4 ± 0,007	40,1 ± 1,7	37,7 ± 1,1 c

Tabla 4.2. Peso de grano, porcentaje de aceite y contenido de aceite por grano del híbrido tradicional ACA 885 para distintos tratamientos de radiación solar interceptada en los experimentos SP1, SP2, B1, B2 y P. Para cada variable y experimento valores seguidos de la misma letra no difieren según Tukey (0,05).

Experimento	T	RSI (MJ pta ⁻¹)	PG	[A]
SP1	R	38,4 ±3,0	34,0±5,9	47,2±0,9 b
	T	15,4±1,2	41,8±5,0	38,0±2,3 b
	S 50%	10, 6±1,1	34,0±5,0	24,8± b
	S 80%	4,8±0,6	8,7±3,3	SD
SP2	R	22, 2±4,5	39,5±2,1	43,6±3,0 a
	T	16,5±1,5	35±2,8 a	40,8±1,3 b
	RS 50%	12,1±1,7	30,6±1,9	33,7±1,1 c
	S 50%	7,3±0,2	26,1±2,6	33,9±2,1 c
	S 80%	4,1±0,12	29±11,3	27,9±1,3 d
B1	R	45,6±2,2	58,3±3,1	54,4±1,5 a
	T	26,7±1,1	57,5±1,2	53,1±0,6 a
	S 50%	12,3±0,3	48,6±0,4	48,8±1,5 b
	S 80%	5,2±0,9	41,4±3,0	39,3±1,8 c
B2	R	43,1±1,3	58,6±2,7	55,3±0,8 a
	T	24,3±0,1	57,6±5,6	57,0±0,7 a
	RS 50%	14,1±0,5	44±4,3 b	48,4±2,4 b
	S 50%	12,7±0,7	44,3±0,7	49,0±2,9 b
	S 80%	6,7±0,05	39,7±1,7	41,1±2,1 c

Tabla 4.3. Peso de grano, porcentaje de aceite y contenido de aceite por grano del híbrido tradicional DK3820 para distintos tratamientos de radiación solar interceptada en los experimentos SP1, SP2, B1 y B2. Para cada variable y experimento valores seguidos de la misma letra no difieren según Tukey (0,05).

La cantidad de radiación solar interceptada por planta durante el llenado de los granos afectó los componentes de rendimiento en todos los genotipos y localidades explorados ($p < 0.05$). Los patrones de respuesta fueron similares tanto cuando se consideró la RSI acumulada durante el período crítico (Figuras 4.5 y 4.6) como la RSI acumulada durante todo el llenado de los granos (Figuras A1 y A2, Anexo).

El peso y el porcentaje de aceite de los granos respondieron a la radiación solar interceptada por planta siguiendo una función de tipo exponencial que crece hasta un máximo (Ecuación 3, Capítulo 2, sección 2.2.4) para ambos híbridos, años y localidades. Tanto el PG como la [A] (%)

aumentaron con la RSI hasta un máximo donde aumentos de la RSI no producen cambios en las variables.

El peso de granos del híbrido DK3820, alcanzó su máximo valor a $24,3 \pm 0,1$ MJ pta^{-1} de RSI en los experimentos B1 y B2. Efectos similares se observaron en el híbrido ACA885. En cuanto al porcentaje de aceite, el incremento se estabilizó a partir de $20,5 \pm 0,5$ MJ pta^{-1} de RSI, en los experimentos B1 y B2 en ambos híbridos.

El mayor peso y porcentaje de aceite de los granos se obtuvo en experimentos con menor temperatura media durante el llenado de granos.

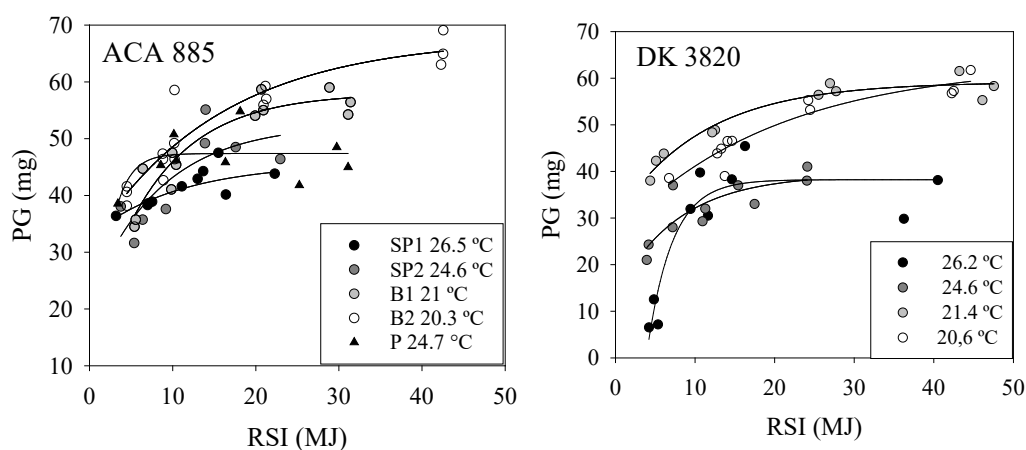


Figura 4.5. Peso final de los granos (PG) en función de la radiación solar interceptada por planta (RSI) acumulada en el período 250-450 °Cd df para híbridos tradicionales (ACA885 y DK3820). Los símbolos corresponden a los experimentos de campo en cada localidad y año. La línea continua representa la Ecuación 3 ajustada a los datos experimentales.

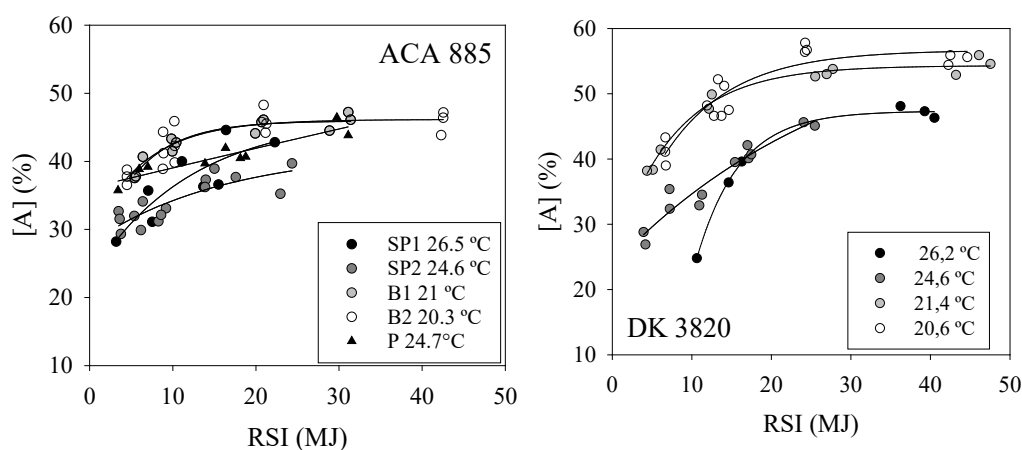


Figura 4.6. Porcentaje de aceite ([A] (%)) en función de la radiación solar interceptada por planta (RSI) acumulada en el período 250-450 °Cd df para híbridos tradicionales (ACA885 y DK3820). Los símbolos corresponden a los experimentos de campo en cada localidad y año. La línea continua representa la Ecuación 3 ajustada a los datos experimentales.

4.2.3 Análisis de la respuesta del peso final y porcentaje de aceite de los granos a la acción conjunta de la temperatura y la radiación solar interceptada por planta

4.2.3.1 ¿Los efectos de la temperatura están exclusivamente mediados por una menor acumulación de la RSI?

La Figura 4.7 muestra como RSI (250-450°Cd df) depende de TM considerando las plantas control en experimentos de campo y la TM registrada durante el llenado de los granos para los híbridos ACA885 y DK3820. En los dos híbridos estudiados la RSI en la ventana crítica disminuyó linealmente con el aumento de la temperatura ($r^2=0.81$ y 0.70 respectivamente). Considerando la RSI durante todo el llenado la relación también fue lineal negativa para ambos híbridos ($r^2= 0.90$ para ACA885 y $0,84$ para DK3820).

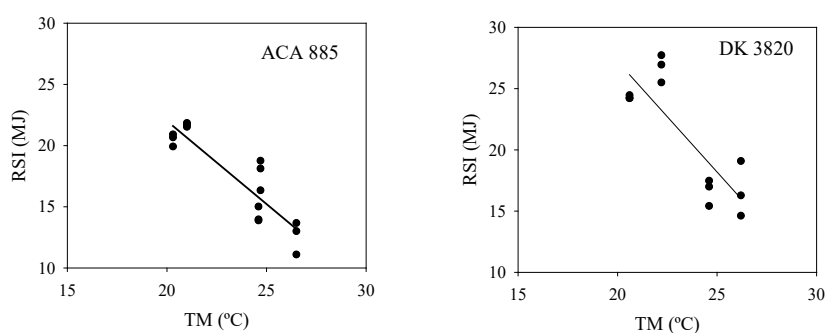


Figura 4.7 Radiación solar interceptada acumulada durante el período 250-450°Cd df en función de la temperatura media. Los símbolos corresponden al tratamiento testigo de los experimentos de campo en cada localidad y año para los híbridos tradicionales (ACA885 y DK3820). La línea continua representa la regresión lineal entre las variables RSI y TM.

Al relacionar los valores de PG y [A] (%) obtenidos en las plantas control con la TM, se observó una relación lineal negativa en ambos híbridos (ACA 0,71 y 0,74 respectivamente; DK3820 0,59 y 0,95 respectivamente). Con el fin de conocer si los efectos de la temperatura responden exclusivamente a cambios en la velocidad de desarrollo y por lo tanto a variaciones en la acumulación de RSI durante el período crítico, se analizaron en conjunto los valores de PG y [A] (%) obtenidos en el campo a diferentes TM, en condiciones de máxima radiación incidente (diferente duración del período de llenado), y los datos obtenidos en el experimento B2, para todos los niveles de radiación logrados con los tratamientos de sombreos y raleo. Este

experimento, permitió obtener los mayores valores de PG y [A] (%) para cada RSI, con los menores valores de TM (Fig. 4.5 y 4.6).

Si los efectos de la TM estuvieran mediados exclusivamente por la RSI, debería existir una superposición entre ambos sets de datos cuando son analizados en función de la RSI. Sin embargo, se observó la separación de los valores obtenidos en condiciones de mayor TM (Figura 4.8). Los residuales de los valores observados con respecto a la curva del experimento B2 estuvieron correlacionados con la TM (en ACA885 $r^2 = 0.87$ para PG y 0.82 para [A]%; en DK3820 $r^2 = 0.80$ para PG y 0.96 para [A]%).

Según esto, la respuesta del PG y [A] (%) para ambos híbridos, en los experimentos con distintas TM, no depende únicamente de la disminución de radiación solar interceptada acumulada como consecuencia del acortamiento del período crítico. Estos resultados indican que el peso y porcentaje de aceite de los granos dependen simultáneamente de TM y RSI.

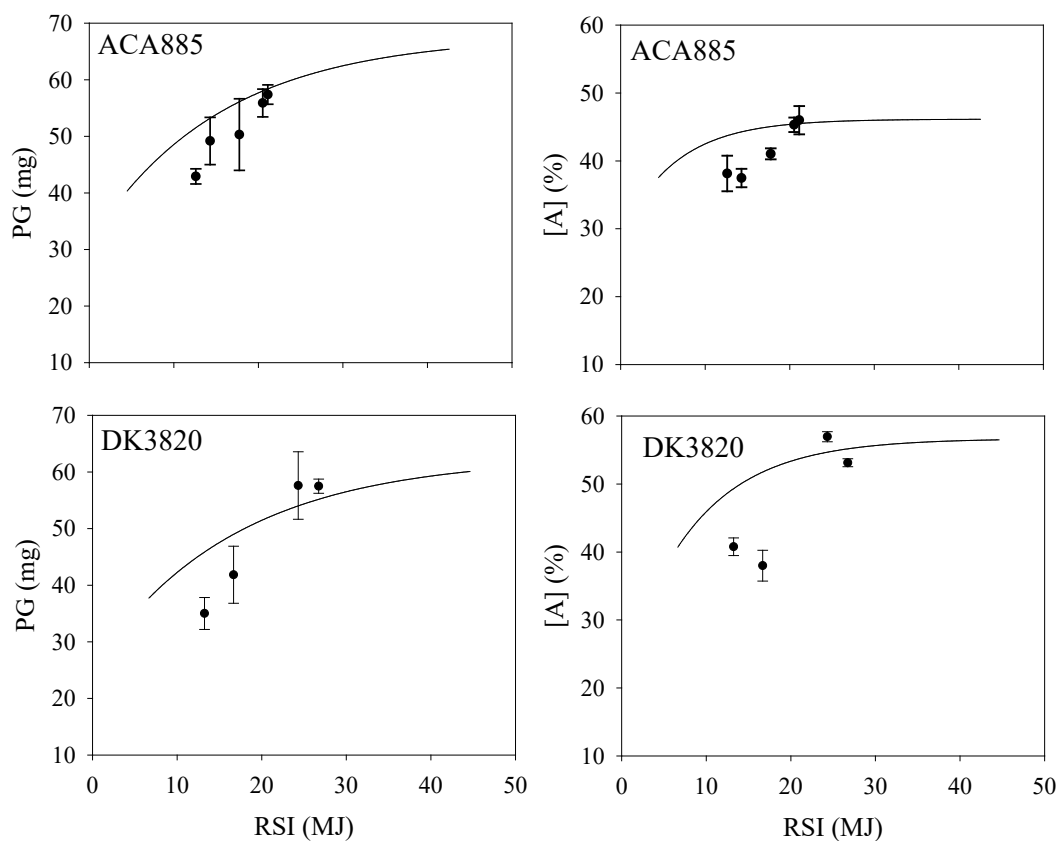


Figura 4.8 Peso final de los granos (PG) y porcentaje de aceite A en función de la radiación solar interceptada por planta (RSI) acumulada en el período 250-450 °Cd df para híbridos tradicionales (ACA885 y DK3820). Los símbolos corresponden a los experimentos de campo en cada localidad y año. La línea continua representa la Ecuación 3 ajustada a los datos experimentales para la localidad de Balcarce (experimento B2).

A partir de la relación encontrada entre la RSI y TM (Figura 4.7), se reemplazó en la Ecuación 3 (Capítulo 2, sección 2.2.4), la RSI por la función de TM:

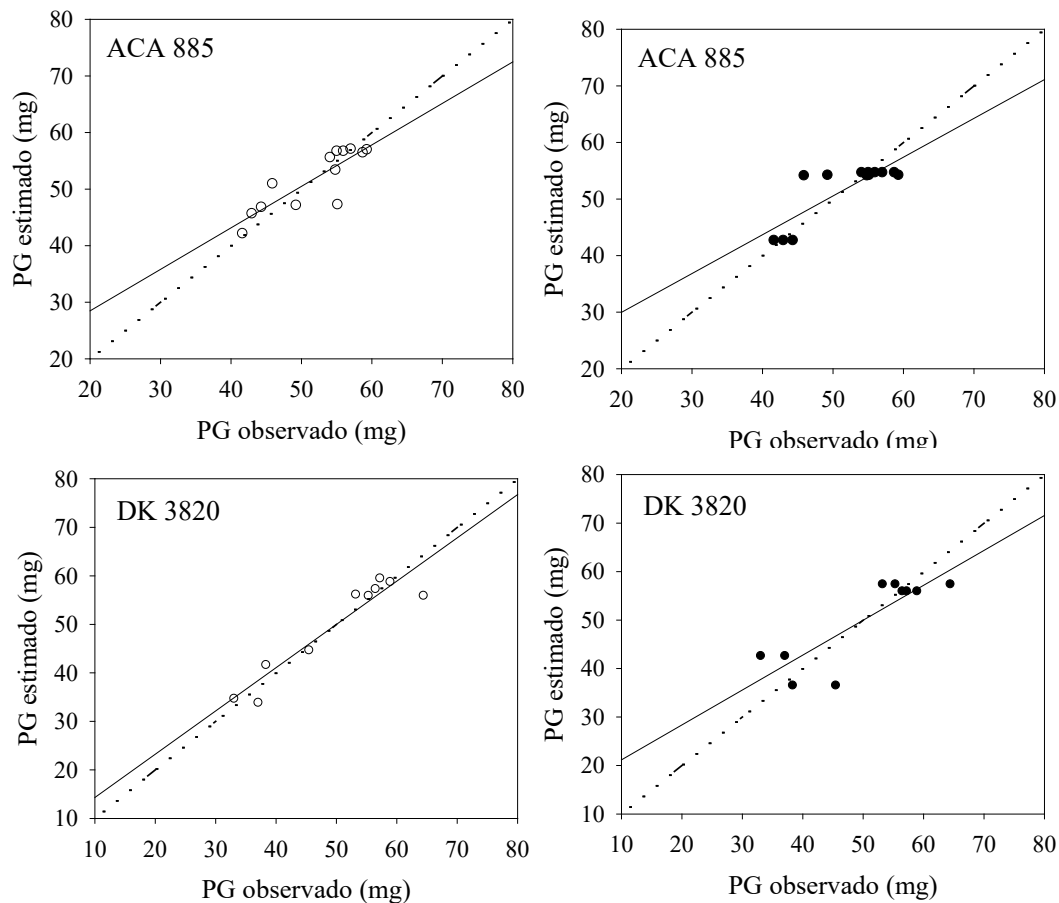
$$PG_{ACA885} = y \cdot j e^{-k(49.151 - 1.3752TM)}$$

$$[A]_{ACA885} = y \cdot j e^{-k(49.151 - 1.3752TM)}$$

$$PG_{DK3820} = y \cdot j e^{-k(63.336 - 1.8058TM)}$$

$$[A]_{DK3820} = y \cdot j e^{-k(63.336 - 1.8058TM)}$$

En cada híbrido se estimaron PG y [A] (%) con ambos modelos (Fig 4.9). El modelo que incluyó la relación entre RSI y TM fue poco sensible para estimar los cambios en el peso de granos o porcentaje de aceite. La temperatura considerada solamente a través de su efecto sobre la acumulación de RSI durante la ventana no es capaz de explicar completamente las variaciones en el peso o aceite.



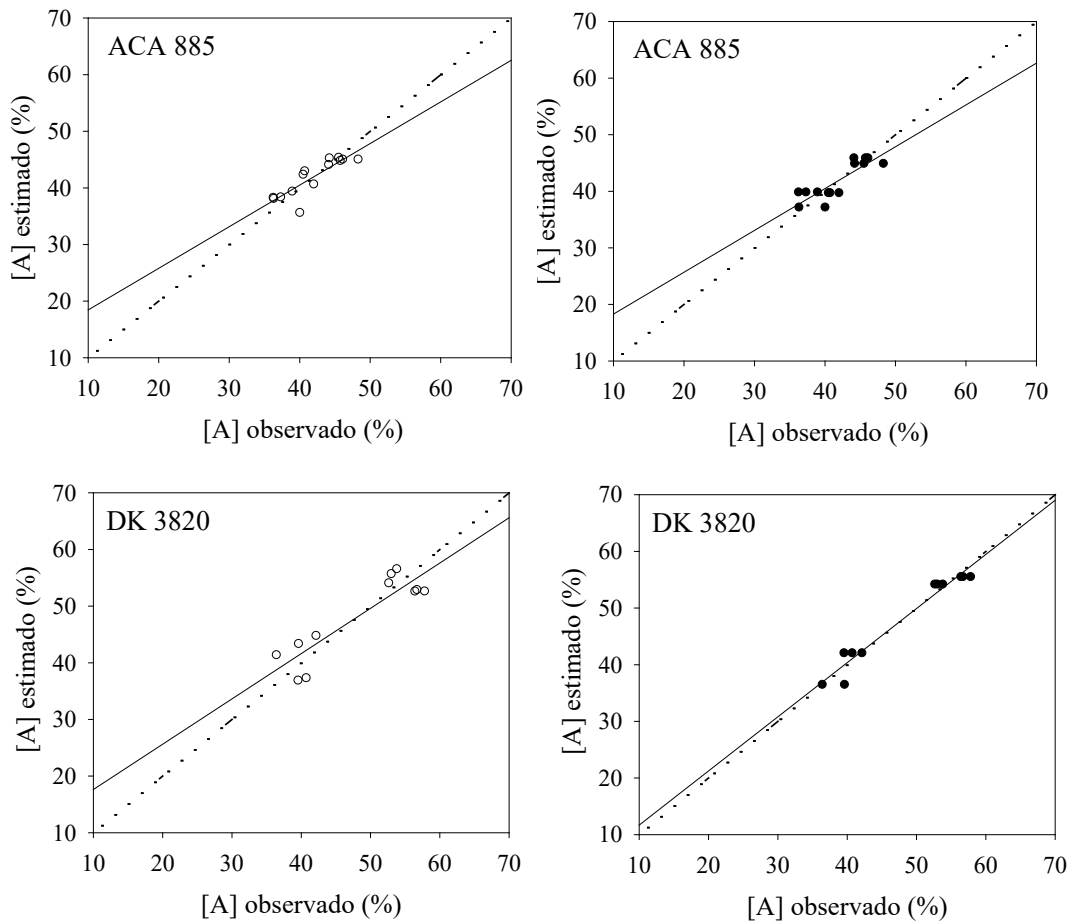


Figura 4.9. Valores de peso de grano (PG) y porcentaje de aceite [A] estimados en función de los valores observados para los híbridos ACA885 y DK3820. La línea punteada representa la bisectriz (relación 1:1). La línea continua representa la regresión lineal entre los datos estimados y observados. Los símbolos vacíos representan los valores estimados con el modelo RSI, los símbolos llenos los valores estimados con el modelo RSI-TM.

4.2.3.2 Efectos conjuntos de la temperatura y la radiación solar interceptada

Considerando los resultados presentados en las figuras 4.5 y 4.6 y los resultados obtenidos en el ítem 4.2.3.1, se analizaron los efectos conjuntos de la temperatura y radiación solar interceptada. Considerando que las curvas de respuesta a RSI presentan en general similar curvatura y amplitud (Figura 4.5 y 4.6), pero alcanzaron diferente valor máximo (y), se exploró la correlación de y con la TM. Se observó que el parámetro y se correlacionó con la TM para los dos componentes en ambos híbridos. (en ACA885 $r^2 = 0,73$ para PG y $r^2 = 0,57$ para [A]; en DK3820 $r^2 = 0,88$ para PG y $r^2 = 0,76$ para [A]).

A partir de la correlación encontrada, se construyó una relación matemática que consideró la relación del parámetro y con la temperatura. Para ello, en la Ecuación 3, se reemplazó el parámetro y por las expresiones matemáticas de las relaciones establecidas, quedando conformadas según se detalla a continuación:

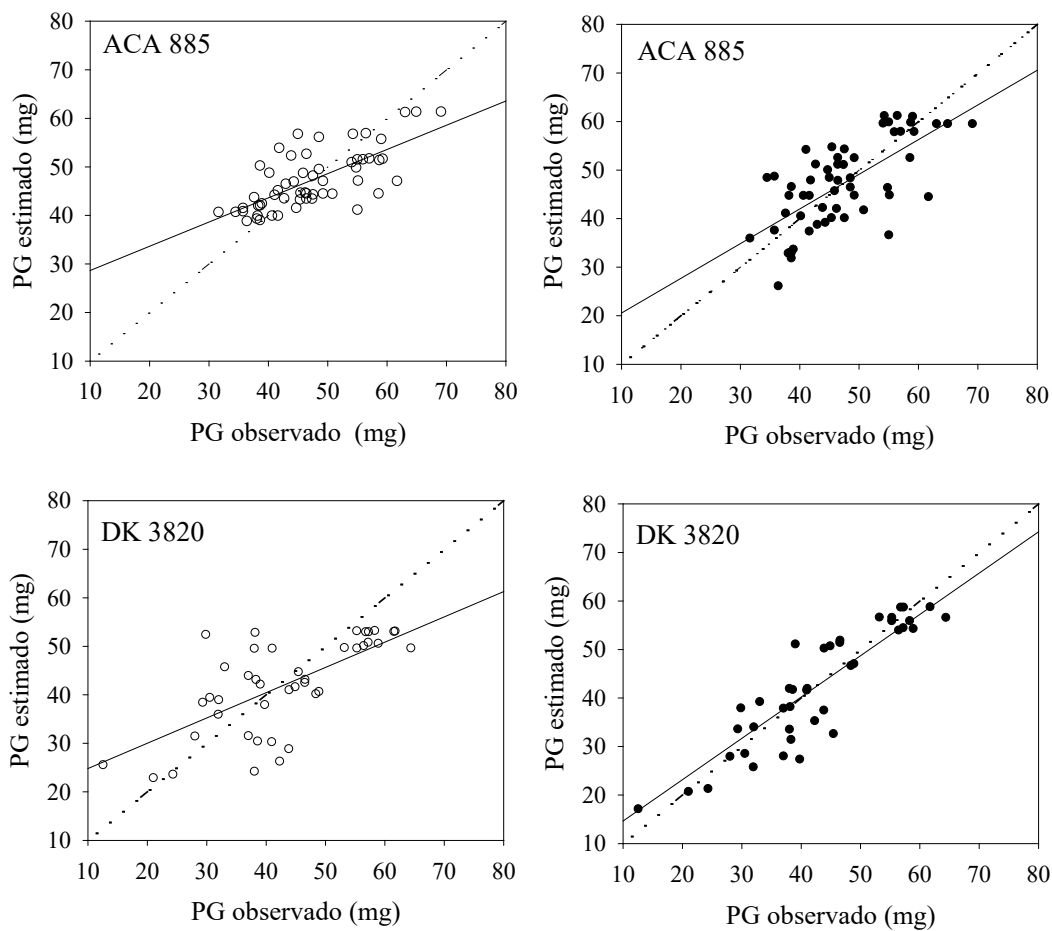
$$PG_{ACA885} = (120,44 - 2,8937TM) - je^{-k RSI}$$

$$A\%_{ACA885} = (65,979 - 0,9958TM) - je^{-k RSI}$$

$$PG_{DK3820} = (134,34 - 3,6546TM) - je^{-k RSI}$$

$$A\%_{DK3820} = (93,346 - 1,8629TM) - je^{-k RSI}$$

En cada híbrido se estimaron el peso de los granos y el porcentaje de aceite con los dos modelos (PG o A% f(RSI) y PG o A% f(RSI, TM)). Se relacionaron los valores estimados por ambas ecuaciones con los valores observados (Figura 4.10).



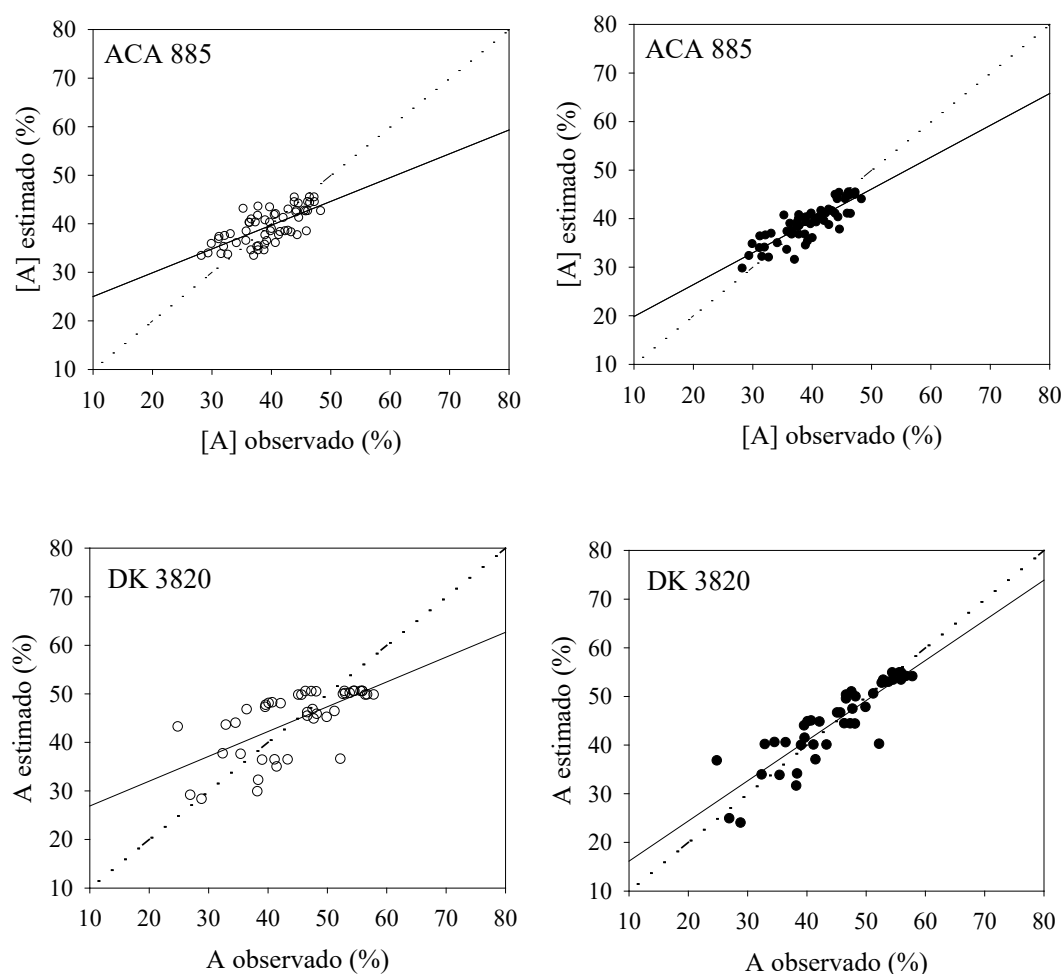


Figura 4.10. Valores de peso de grano (PG) y porcentaje de aceite (A) estimados en función de los valores observados para los híbridos ACA885 y DK3820. La línea punteada representa la bisectriz (relación 1:1). La línea continua representa la regresión lineal entre los datos estimados y observados. Los símbolos vacíos representan los valores estimados con el modelo RSI, los símbolos llenos los valores estimados con el modelo RSI-TM.

En ambos híbridos y para las dos variables (PG y A), los ajustes fueron significativamente mejores cuando se utilizó la función que considera los efectos de la temperatura. En concordancia con esto, el modelo que considera los efectos conjuntos de la RSI por planta y la TM durante el llenado de granos, tiene mayor probabilidad de ser el modelo correcto ya que presentó menor valor de AIC con respecto al modelo que solo considera los efectos de la RSI (Tabla 4.4).

Híbrido	Variable	AIC		Probabilidad		P
ACA885		RSI	TM-RSI	RSI	TM-RSI	
	PG	213.64	205.08	>99.99%	>99.99%	0.0015
	A	166.09	126.87	<0.01%	>99.99%	<0.0001
DK3820	PG	206.23	163.73	<0.01%	>99.99%	<0.0001
	A	175.55	137.46	<0.01%	>99.99%	<0.0001

Tabla 4.4. Valores de AIC (Akaike's Information Criteria) y probabilidad de los modelos RSI y RSI-TM para los híbridos tradicionales (ACA885 y DK3820).

El modelo que considera los efectos conjuntos de la RSI y la TM predijo con menor error los datos experimentales de las variables en estudio que el modelo que considera solo la RSI.

4.3 DISCUSIÓN

En este capítulo, se investigó la respuesta del peso y el porcentaje de aceite de los granos a la temperatura media y la radiación solar interceptada durante el llenado de granos de híbridos de girasol tradicional, mediante la combinación de experimentos en cámaras de crecimiento y en el campo. Esta metodología es apropiada para separar los efectos de factores ambientales que actúan conjuntamente sobre las plantas en condiciones naturales. Ha sido utilizada exitosamente para investigar los efectos de uno o más factores ambientales (temperatura y radiación solar) sobre el porcentaje de ácido oleico en aceite de girasol (Izquierdo et al, 2002; Echarte et al., 2010), maíz y soja (Zuil et al, 2012).

Modelo bilineal para el efecto de la temperatura

El efecto de la temperatura sobre el peso de granos y el porcentaje de aceite de híbridos tradicionales se explicó con un modelo de respuesta bi lineal, definido en condiciones

controladas. Las disminuciones producidas por efecto del aumento de la temperatura fueron mayores para el peso de granos que para el porcentaje de aceite, siendo de hasta 12.7 % °C⁻¹. Coincidentemente con las máximas disminuciones encontradas, Ploschuk y Hall (1995) observaron una merma en el peso final de grano del orden de 13% promedio por cada 1°C de incremento en la temperatura en girasol. La función de respuesta definida para los híbridos estudiados en esta tesis, también explicó los resultados obtenidos por Chimenti et al (2001) con embriones de una línea endocriada de girasol. Estos autores observaron una respuesta curvilínea decreciente con significativas disminuciones (1,2% por cada °C de aumento) a partir de 25°C. Al transformar el peso de embriones en peso de granos, la expresión matemática plateau+lineal describió adecuadamente la respuesta a la temperatura del peso relativo de grano ($r^2=0,98$; Fig 4.1). Este modelo ha sido recientemente utilizado para explicar la relación entre el peso de frutos de olivo y la temperatura media (García-Inza et al, 2014), sugiriendo que el modelo bilínea podría ser aplicado al estudio del efecto de la temperatura en otras especies.

El modelo bilínea también caracterizó la respuesta de la concentración de aceite a la temperatura media con diferencias entre híbridos. Así, por ejemplo, ACA885 y DK3820 no modificaron su porcentaje de aceite hasta 17°C, mientras que DK3881 mantuvo su porcentaje constante sólo hasta 15°C. La disminución lineal del porcentaje de aceite de girasol debida al aumento de la temperatura media, fue observada en frutos de olivo, cuyo contenido de aceite resultó menor, pero como consecuencia del aumento de temperaturas máximas (29 a 32 °C) (Trentacoste et al., 2012). La disminución producida por el aumento de la temperatura, se contraponen a lo observado en soja, en la que fue reportado el aumento lineal en el porcentaje de aceite en condiciones controladas en el rango de 15 a 27°C (Wilson, 2004). Sin embargo, la tasa creciente del porcentaje de aceite de esta especie disminuyó con las temperaturas medias más elevadas en condiciones de campo (de 15 a 25°C) (Carrera et al, 2009).

El efecto de la temperatura en condiciones controladas encontrado en esta tesis no sería atribuible a temperaturas supraóptimas, ya que la respuesta lineal decreciente para todas las variables, se inició a temperaturas menores que las reportadas por Rondanini et al. (2003; 2006) como causantes de las disminuciones del peso de granos por efecto de estrés térmico. Estos autores observaron que exposiciones a temperaturas constantes (> a 35°C) durante 7 días en etapas tempranas del llenado de granos produjeron la disminución del peso final de grano y del porcentaje de aceite (Rondanini et al., 2003). En un régimen alternante de altas temperaturas día-noche, se identificó una duración mínima de 4 días de exposición (> 30°C) como la necesaria para producir una disminución en el rendimiento y cambios en la composición ácida del aceite de granos de girasol (Rondanini et al., 2006).

El peso y porcentaje de aceite parecen ser caracteres plásticos frente a los efectos de la temperatura, cuyas respuestas se compensan para finalmente transformar al contenido de aceite en una variable más estable y con menor variabilidad genética (datos no presentados). Esto sugiere, en concordancia con lo reportado por Mantese et al. (2006), que hay una cantidad (no porcentaje) de aceite que la semilla debe asegurarse para lograr la supervivencia de la siguiente generación.

Variabilidad genética de la respuesta a la temperatura

Mediante el análisis de los parámetros del modelo bi-lineal se puso en evidencia la variabilidad genética de la respuesta a la temperatura del peso y porcentaje de aceite de los granos, particularmente en la temperatura del punto de inflexión y la pendiente de respuesta. La temperatura que marca el comienzo de la disminución de la variable, indica la existencia de un rango de temperaturas en el cual no hay efecto sobre el peso final del grano pero sí decrece el porcentaje de aceite. Esto sugiere que los granos pueden alcanzar su tamaño potencial aun cuando la síntesis de aceite se encuentra inhibida (o la de componentes no aceite favorecida). Se han encontrado diferentes patrones de acumulación de aceite en el embrión entre cultivares de girasol, dando lugar a variaciones en la concentración de aceite de embrión maduro. En un cultivar con alto porcentaje de aceite, la acumulación finalizó conjuntamente con el cese del crecimiento del embrión, mientras que en otros dos cultivares con menor porcentaje, el aceite dejó de acumularse antes de que el embrión alcanzara el peso máximo (Mantese et al., 2006).

La diferente sensibilidad encontrada aquí para la respuesta a la temperatura, se ha observado al estudiar la respuesta del porcentaje de aceite a la radiación solar, siendo más sensibles los híbridos con alto porcentaje de aceite potencial en contraposición a una mayor estabilidad en híbridos de bajo porcentaje de aceite potencial (Dosio et al. 2000; Izquierdo et al., 2008). Respuestas diferenciales de los genotipos de girasol han sido encontradas en condiciones de cultivo contrastantes, como ser mayor variabilidad de la concentración de aceite relacionada a las condiciones de manejo y ambientales (Champolivier et al., 2011), o a las interacciones GxE (Andrianasolo et al., 2012).

Los resultados obtenidos en el campo fueron compatibles con el modelo bilineal establecido en condiciones controladas. A partir de un umbral superior se hizo evidente la disminución del peso de granos y porcentaje de aceite ante aumentos de la temperatura en todos los híbridos ensayados.

Efectos conjuntos de la temperatura y la radiación solar interceptada

En experimentos de campo fue posible evaluar la respuesta del peso de granos y su porcentaje de aceite a la radiación solar interceptada en un amplio rango de temperaturas medias representadas por distintas localidades y años. Independientemente del máximo valor alcanzado, las respuestas de las variables fueron similares bajo diferentes condiciones termales, y al igual que la respuesta a la temperatura media, diferentes parámetros de una misma expresión matemática caracterizaron la respuesta de cada genotipo. En concordancia con lo encontrado por otros autores, el peso y porcentaje de aceite se incrementaron hasta un máximo valor con la radiación solar interceptada durante todo el llenado de granos (Dosio et al, 2000) y durante el período crítico 250-450 °Cd df (Aguirrezábal et al, 2003) para todas las temperaturas investigadas y en todos los genotipos ensayados.

En los experimentos realizados en el campo, los menores pesos de granos y porcentaje de aceite fueron obtenidos en condiciones de baja radiación solar interceptada y, para un mismo valor de radiación, la disminución fue mayor con las temperaturas medias más elevadas durante el llenado de granos. Además, una relación lineal negativa entre la RSI acumulada en el período crítico (250-450°Cddf) y la TM fue encontrada para los híbridos estudiados, cultivados en condiciones de radiación incidente saturante. Esto indicaría que los efectos de la temperatura sobre el peso y porcentaje de aceite podrían estar dados por un acortamiento del llenado con una consecuente menor RSI acumulada. Sin embargo, se pudo comprobar que en las localidades con mayor TM (y con radiación incidente saturante) los efectos de la temperatura no son totalmente explicados por el acortamiento del período de llenado de granos (con menor RSI acumulada). El desvío del comportamiento de estos datos con respecto a la curva de RSI de la localidad con menor TM, estaría dado por un efecto directo de la temperatura sobre los caracteres estudiados.

El análisis reveló que existen efectos conjuntos de la temperatura y radiación sobre el peso y el porcentaje de los granos en los híbridos tradicionales. En este sentido, la estimación de los datos con la función que considera ambos efectos (TM-RSI) se relacionó adecuadamente con los valores observados en los híbridos ACA885 y DK3820. La predicción fue mejor que cuando se consideró solo el efecto de la RSI.

La temperatura mínima nocturna y la radiación solar interceptada por planta tienen efectos independientes y aditivos sobre el porcentaje de ácido oleico (Echarte et al., 2010). Es esperable que factores ambientales que ejercen sus efectos de forma aditiva, pero no interactúan, actúen sobre diferentes secuencias causales que conducen a la respuesta (Salisbury y Ross, 1992). En efecto, para el caso del efecto de la temperatura sobre el porcentaje de ácido oleico, existe vasta información sobre como este factor ambiental regula la síntesis de este ácido graso mediante el control directo o indirecto de la enzima FAD2, la enzima clave involucrada en la biosíntesis del

mismo (Garcés et al., 1992; Kabbaj et al. 1996; Rolletschek et al., 2007). Izquierdo et al (2009) propusieron que los cambios en el porcentaje de ácido oleico en respuesta a variaciones en la radiación solar interceptada podrían ser mediados por cambios en el suministro de carbono hacia los granos, lo que podría afectar el nivel de saturación de las enzimas claves en la síntesis de lípidos. A altas irradiancias, la enzima FAD2, el principal punto de regulación en esta vía, podría ser sustrato saturada y así incrementar la disponibilidad local de carbono, dando lugar a una relativa acumulación de ácido oleico. A partir de investigaciones realizadas en girasol y soja, se ha sugerido que el efecto de la radiación solar sobre el peso final y la composición de los granos podría explicarse por la disponibilidad de asimilados en los granos (Echarte et al., 2012, Bianculli et al, 2016). Por otra parte, a altas temperaturas nocturnas el incremento en la respiración conduce a una menor disponibilidad de carbono (Quin, 1981; Mohammed y Tarpley, 2009). En consecuencia, los efectos opuestos de estos dos factores ambientales (TMN y RSI) en el suministro de carbono constituye otro aspecto que apoya la idea que la temperatura y la radiación solar podrían afectar a través de diferentes mecanismos.

Los resultados de este capítulo sugieren que la respuesta del peso de granos y porcentaje de aceite a la temperatura puede ser atribuida en parte a la disminución de la cantidad de radiación solar acumulada como consecuencia del acortamiento del período crítico para la radiación solar, así como del período de llenado de granos. No obstante, cuando se tiene en cuenta un efecto directo de la temperatura adicionado al efecto de la radiación, la predicción de las variables mejora significativamente en los híbridos estudiados.

4.4 CONCLUSIÓN

En este capítulo, los resultados obtenidos de experimentos donde se modificó la temperatura en condiciones controladas, permitieron establecer un modelo que describe la respuesta del peso y el porcentaje de aceite de los granos de girasol a la temperatura media. Además, se estableció el efecto conjunto de la temperatura y la radiación solar interceptada en condiciones naturales, verificando que la temperatura ejerce sus efectos tanto sobre la menor acumulación de radiación solar interceptada al acortar el período crítico, como también de manera directa.

CAPÍTULO 5
Consideraciones finales.

5.1 RESPUESTA A LAS HIPÓTESIS PLANTEADAS

En esta tesis se investigó primeramente la variabilidad genética de la repuesta del porcentaje de ácido oleico de 17 híbridos alto oleico a la temperatura utilizando el mismo modelo con el que se había caracterizado la variabilidad genética de dicha respuesta en híbridos tradicionales (Izquierdo y Aguirrezabal, 2008). Comparando los parámetros del modelo, se demostró que hay variabilidad genética de la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna. En consecuencia, la hipótesis 1 **“existe variabilidad genética en la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna de híbridos alto oleico portadores de la mutación Pervenets”**, es aceptada.

Utilizando el modelo sigmoideo de respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura, se identificaron una temperatura individual y combinaciones de dos y tres temperaturas, que permitirían evaluar fenotípicamente la respuesta del porcentaje de ácido oleico de numerosos genotipos alto oleico realizando pocos experimentos, lo que permitiría mejorar la eficiencia del fenotipado. Por lo tanto, la hipótesis 2 **“un bajo número de temperaturas (≤ 3) permiten predecir el comportamiento de los híbridos en un amplio rango de temperaturas durante el llenado”**, es aceptada.

Por último, se estudió la respuesta del peso y porcentaje de aceite de los granos de híbridos tradicionales a la temperatura media, la radiación solar interceptada y a sus efectos conjuntos. En condiciones controladas, se caracterizó un patrón común de respuesta bilineal a la temperatura media con evidencias de variabilidad de la respuesta. Los resultados obtenidos en el campo acompañaron este modelo de respuesta. Se había postulado que **“una única expresión funcional caracteriza la respuesta del peso o del porcentaje de aceite de granos de diferentes genotipos de girasol tradicional a partir de la temperatura media durante el llenado de los granos”**. Por lo tanto, la hipótesis 3 planteada es aceptada. Al investigar los efectos conjuntos de la temperatura y radiación solar interceptada sobre el peso y porcentaje de aceite, los resultados indicaron que hay un efecto de la temperatura sobre la tasa de desarrollo, acortando la ventana crítica para la acumulación de radiación solar interceptada y que, además, existe un efecto directo de la temperatura sobre el peso y porcentaje de aceite. En consecuencia, la hipótesis 4 **“los efectos de la temperatura sobre el peso y el porcentaje de aceite podrían estar solamente mediados por una menor acumulación de RSI como consecuencia del acortamiento del período de llenado”**, es rechazada.

5.2 SIGNIFICADO DE LAS CONTRIBUCIONES DE ESTA TESIS

En esta tesis se investigaron las respuestas del peso y composición ácida de los granos de híbridos de girasol tradicionales y alto oleico a la temperatura ambiente y la radiación solar interceptada por planta durante el llenado de granos. Se puso énfasis en el estudio del modo en que estos factores ambientales actúan conjuntamente.

Se abordó el estudio de los efectos individuales y conjuntos de la temperatura y la radiación solar con un enfoque experimental que incluyó experimentos en el campo, experimentos en condiciones controladas y el modelado ecofisiológico. Los experimentos en el campo fueron realizados en distintas localidades y años lo que permitió cubrir un amplio rango de temperatura y radiación solar incidente en condiciones naturales. Los tratamientos aplicados para modificar la radiación solar interceptada en los experimentos en el campo, permitieron combinar distintos niveles de este factor a una misma temperatura (un mismo experimento) y a diferentes temperaturas (distintos experimentos) durante el llenado de los granos. Por su parte, el uso de condiciones controladas permitió analizar la respuesta a la temperatura disociando su efecto del de la radiación solar incidente, lo que hubiera sido difícil en condiciones naturales por estar ambos factores generalmente correlacionados. El modelo ecofisiológico, permitió avanzar en el conocimiento de los mecanismos subyacentes a los efectos individuales y conjuntos de los factores ambientales sobre el peso y la composición de granos y aceites y/o aportar herramientas y conocimientos aplicables en diferentes áreas como el mejoramiento genético y manejo del cultivo de girasol. A continuación, se expone el significado de los principales emergentes de esta tesis en relación a los aportes a cada una de estas áreas.

Aportes al conocimiento de los mecanismos y al modelado.

Como resultado del trabajo desarrollado en esta tesis, se identificaron para todos los híbridos estudiados, similares patrones de respuesta de los diferentes componentes del rendimiento en aceite y la calidad del grano a la temperatura y la radiación solar interceptada. Además, se avanzó en la comprensión de aspectos desconocidos de los efectos conjuntos de la temperatura y radiación solar interceptada sobre el peso y calidad de los granos.

Esta tesis contribuye a demostrar la universalidad del modelo sigmoideo que describe la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna en girasol. Mediante la aplicación de este modelo, propuesto anteriormente y ampliamente validado, se caracterizó la respuesta del porcentaje de ácido oleico de numerosos híbridos alto oleico de girasol a la temperatura. Esta misma respuesta se había reportado previamente para diferentes de híbridos

tradicionales (Izquierdo y Aguirrezábal, 2008) lo que prueba que, para girasol, este patrón constituye un modelo robusto.

La relación sigmoidea entre el porcentaje de ácido oleico y la temperatura mínima nocturna, se caracteriza por un aumento del porcentaje de ácido oleico desde valores mínimos, pasando por una zona de fuerte respuesta y, posteriormente, una reducción de la misma alcanzando valores máximos a temperaturas más altas (Izquierdo y Aguirrezábal, 2008; Cap. 1, Fig 1.4). Interesantemente, a pesar de la pequeña diferencia entre el mínimo (y_o) y máximo (y_{max}) porcentaje de ácido oleico observada en los híbridos alto oleico aquí estudiados, fue posible no sólo establecer relaciones entre el porcentaje de ácido oleico y la temperatura mínima nocturna, sino también caracterizar diferentes respuestas para los distintos híbridos. Así, mientras que en la mayoría de los híbridos se pudo observar la curva sigmoidea completa (12 de 17 híbridos), en algunos híbridos se expresó solo la parte superior de la curva (5 de 17 híbridos) (Capítulo 3, Figuras 3.3 y 3.4). Esto sugiere que, posiblemente, el plateau inferior en algunos híbridos se obtenga a temperaturas inferiores a la menor temperatura mínima nocturna explorada en los ensayos analizados de la Red Nacional de Girasol (13 °C). Como estos ensayos son realizados en las fechas de siembra óptima recomendadas para cada localidad, sería esperable que, en las fechas de siembra tardías, principalmente en localidades del sur del país, se exprese el plateau inferior para los híbridos cuya curva sigmoidea es incompleta. Coincidentemente, los resultados obtenidos en esta tesis con los híbridos alto oleico confirman que la mutación Pervenets (Soldatov, 1976), presente en prácticamente todos los híbridos alto oleico comerciales, y que aumenta el porcentaje promedio de ácido oleico en el aceite, no suprime la respuesta de este rasgo de la calidad del aceite a la temperatura mínima nocturna. Recientemente, se ha reportado una respuesta lineal positiva (sin detectar el plateau inferior ni el superior) entre el porcentaje de ácido oleico y la TMN en una isolínea de girasol portadora de la misma mutación (Alberio *et al.*, 2016). Esta diferente respuesta, comparada con el amplio conjunto de híbridos estudiados en esta tesis, podría explicarse por la menor sensibilidad del híbrido estudiado o por el menor rango de variación de temperaturas explorado por estos autores en comparación al explorado en esta tesis.

Utilizando las relaciones ajustadas en esta tesis, para diferentes híbridos alto oleico, entre el porcentaje de ácido oleico y la temperatura mínima nocturna, Angeloni *et al.* (2017) simularon la calidad de aceite que se obtendría en diferentes fechas de siembra y localidades bajo condiciones actuales y en un escenario de calentamiento global. Así, dicho estudio muestra que herramientas simples de modelado ecofisiológico como las establecidas en esta tesis pueden ser aplicadas para investigar procesos complejos como, por ejemplo, el efecto del cambio climático sobre la calidad de productos agrícolas en escenarios futuros probables. Además, puede también

remarcarse que, dada la robustez del modelo aplicado para describir la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura, el mismo podría ayudar al esclarecimiento de los procesos fisiológicos subyacentes a las respuestas a la temperatura en una vía bioquímica compleja, como la biosíntesis de ácidos grasos. La temperatura afecta la actividad y la síntesis de la enzima oleato desaturasa, que desatura el ácido oleico para dar ácido linoleico, modificando la relación oleico/linoleico. En los híbridos alto oleico esta enzima está presente, aunque en menor cantidad y/o con menor actividad que en los híbridos tradicionales (Garcés *et al.*, 1992; Kabbaj *et al.*, 1996). Los resultados obtenidos en esta tesis sugieren que esta enzima presenta sensibilidad a los cambios de la temperatura. Su dependencia de la temperatura puede relacionarse con la respuesta sigmoidea del ácido oleico, en la que se expresan dos zonas de poca variación representadas por un plateau inferior y otro superior. Así, aún en híbridos que portan la mutación alto oleico Pervenets, los valores de y_0 e y_{max} reflejarían el máximo y el mínimo de actividad de la enzima ODS, respectivamente, y b_{max} podría estar relacionada con la sensibilidad de esta enzima a la temperatura, tal como había sido propuesto por Izquierdo y Aguirrezábal (2008). Los valores de los diferentes parámetros del modelo, ajustados para diferentes genotipos, podrían así postularse como análogos a actividades aparentes de la enzima involucrada.

Los experimentos realizados en esta tesis acerca del efecto de los factores ambientales sobre el peso y calidad de los granos, permitieron establecer curvas simples de respuesta a la temperatura y radiación solar interceptada para diferentes híbridos, que representan meta-mecanismos a nivel de planta o cultivo (Tardieu, 2003). Así, dependiendo del factor investigado, se establecieron diferentes patrones de respuesta, caracterizados por expresiones funcionales específicas. i) Para la respuesta a la radiación solar interceptada, en híbridos tradicionales, un modelo exponencial evidenció la saturación de la respuesta del peso y del porcentaje de aceite a altos niveles de radiación solar interceptada (Cap 4, Fig. 4.5 y 4.6). Este mismo patrón fue observado previamente en otros híbridos tradicionales de girasol no estudiados en esta tesis (Dosio *et al.*, 2000; Echarte *et al.*, 2012; Echarte *et al.*, 2013) y en genotipos de girasol alto esteárico-alto oleico (Martínez *et al.*, 2012). Asimismo, en otras especies también se encontró este tipo de respuesta, tal como en cultivares tradicionales y alto oleico de maíz y soja (Zuil *et al.*, 2012). ii) Por otra parte, se definió un modelo de respuesta bilineal para el efecto de la temperatura sobre el peso y porcentaje de aceite de granos de híbridos tradicionales (Cap 4, Fig 4.1 y 4.2). Esta función ha sido aplicada al estudio del efecto de la temperatura sobre el peso de frutos en olivo (García-Inza, 2014), lo que sugiere que este modelo podría ser útil para investigar el efecto de la temperatura en diferentes especies.

Los modelos de respuesta a factores ambientales establecidos (i e ii) serían aplicables a diferentes usos, especialmente cuando el modelado basado en redes de regulación génica no es factible debido a la complejidad del sistema (la síntesis y acumulación de ácidos grasos en el aceite de granos de girasol). Además, podrían incorporarse a los modelos de crecimiento y desarrollo de los cultivos para predecir variaciones en el rendimiento y calidad entre localidades y regiones con diferentes regímenes de temperatura media, siendo un punto de partida para futuras investigaciones que ayudarían a entender el mecanismo de la respuesta a la temperatura. Otra aplicación en la que estos modelos de respuesta pueden ser de utilidad es el estudio de variabilidad genética así como otros estudios genéticos.

Esta tesis contribuye al avance en el conocimiento del modo de acción que ejercen en conjunto la temperatura y la radiación solar interceptada sobre el peso y el porcentaje de aceite de los granos. El estudio realizado permite de esta manera avanzar hacia la integración de los múltiples factores ambientales que definen el peso y calidad de los granos, y que en condiciones naturales inciden sobre las plantas de manera contemporánea o secuencial. Así, a partir de los modelos de respuesta definidos para la acción individual de cada factor ajustados con datos empíricos obtenidos en experimentos a campo en localidades ubicadas en diferentes latitudes y años donde se aplicaron tratamientos que modificaron la RSI, y aplicando el modelo ecofisiológico, fue posible establecer que la temperatura ejerce su efecto de manera indirecta (por acortamiento del período crítico) y directa.

Desde hace tiempo se conoce que la temperatura afecta el peso unitario de los granos mediada por cambios en la duración o tasa de crecimiento de los mismos (Ploschuk y Hall, 1995). Por otro lado, se había reportado la disminución del peso y porcentaje de aceite como consecuencia de la reducción en la radiación solar interceptada acumulada en el período 250-450°Cd df (Aguirrezábal et al., 2003). En dicho estudio no se encontró efecto de la temperatura sobre el peso y el porcentaje de aceite, probablemente debido al bajo rango de temperaturas medias ocurridas en los experimentos. Con los experimentos realizados en esta tesis fue posible determinar el modo en que ejercen su acción la temperatura y la radiación solar interceptada sobre el peso y porcentaje de aceite de los granos. En condiciones naturales y en un amplio rango de temperaturas medias durante el llenado de granos, la temperatura produjo el acortamiento del período de llenado causando una menor acumulación de radiación solar interceptada en el período crítico (Cap 4, Fig. 4.7). En consecuencia, la disminución del peso de los granos y del porcentaje de aceite observado en los experimentos realizados en el campo, con diferentes tratamientos que modificaron la radiación solar interceptada, fue ocasionada indirectamente por la temperatura a través de la menor acumulación de RSI. Sin embargo, también se registró evidencia que el efecto de la temperatura no fue exclusivamente mediado

por la disminución en la radiación solar interceptada, sino que parte de esta respuesta se debió a un efecto directo de la temperatura sobre el peso y el porcentaje de aceite. Esta afirmación está basada en los resultados obtenidos para el peso de los granos y porcentaje de aceite en experimentos realizados a temperaturas medias elevadas, los que no se correspondieron con los resultados que se obtendrían para un mismo nivel de radiación solar interceptada (Cap 4, Fig 4.8). No es probable que esta diferencia en los valores obtenidos en los experimentos en el campo se deba a un efecto asociado a la localidad en estudio diferente a la temperatura, ya que en todos los casos los residuales de la función entre peso de granos o porcentaje de aceite y radiación solar interceptada (calculados dependiendo del híbrido investigado para dos o tres localidades) se relacionaron con la temperatura, tendiendo a incrementarse los mismos en la medida que esta fue mayor. Este resultado apoya la idea que el efecto es atribuible a diferencias en temperatura media entre experimentos, con lo cual se trataría de un efecto directo de la temperatura sobre el peso de los granos y el porcentaje de aceite. La disminución del peso de granos y del porcentaje de aceite causada por el aumento de la temperatura, no sería atribuible al efecto de estrés térmico por altas temperaturas. Las investigaciones realizadas en girasol sobre el efecto directo de exposiciones a altas temperaturas, definieron que son necesarias temperaturas constantes superiores a 35°C aplicadas durante siete días consecutivos (Rondanini et al., 2003) o cuatro a más días de temperaturas alternantes día/noche (que resulten en temperaturas medias >30°C) (Rondanini et al., 2006) para disminuir el rendimiento y calidad de los granos. Si bien en esta tesis, en algunos experimentos en el campo, se registraron temperaturas máximas altas, éstas no se asemejan ni en la duración ni en la intensidad a las reportadas por estos autores.

El efecto directo de la temperatura sobre el peso de los granos y el porcentaje de aceite, independiente de aquél sobre la tasa de desarrollo y la duración del estadio crítico, sería probablemente debido al incremento de la respiración de los granos que ocurre al incrementarse la misma (Hall *et al.*, 1990).

Aportes al mejoramiento genético y manejo

Las relaciones cuantitativas definidas y validadas entre características de peso y calidad de granos y factores ambientales (como las establecidas en esta tesis) son de utilidad para el mejoramiento genético y podrían ser un medio para cuantificar interacciones genotipo x ambiente (GxE), uno de los grandes desafíos de los fitomejoradores (Aguirrezábal et al, 2009). En efecto, si los modelos son suficientemente robustos, un set de parámetros representa un genotipo (Hammer et al., 2006; Messina et al., 2009), y pueden ser usados para analizar caracteres complejos con alta GxE y efectos pleiotrópicos (Reymond et al., 2003).

El modelo empírico sigmoideo permitió evidenciar la variabilidad genética de la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna, en genotipos con composición acídica mejorada. Los parámetros de la función son útiles para definir diferentes estrategias en el mejoramiento genético de la calidad del aceite. Así, la mínima concentración de ácido oleico (y_0) fue más variable que la máxima concentración (y_{max}). Esta mayor variabilidad genética del parámetro y_0 , se había también reportado para híbridos tradicionales (Izquierdo y Aguirrezábal, 2008) e indica las variaciones máximas en la calidad del aceite que se pueden obtener entre diferentes zonas y fechas de siembra al modificarse el período 100-300 °C ddf. Los genotipos que tienen mayor estabilidad (menor b_{max}) y a su vez alcanzan altos porcentajes de ácido oleico (mayor y_{max}) representan gran conveniencia y constituyen un objetivo sustancial en los planes de mejoramiento.

Los ajustes realizados al porcentaje de ácido oleico en función de TMN son también útiles para el manejo del cultivo con miras a obtener calidades específicas de producto. Para una misma temperatura, hay híbridos que potencialmente producirán mayor porcentaje de ácido oleico. Las variaciones de estos parámetros adquieren importancia al momento de seleccionar el híbrido a sembrar, como también la fecha de siembra, y constituye una herramienta decisiva para obtener una composición acídica determinada, posibilitando la obtención de aceites con diferentes calidades (culinarias, industriales, etc). Los híbridos que mantienen su estabilidad entre ambientes podrían sembrarse en un amplio rango de condiciones ambientales manteniendo la calidad del aceite.

Simulaciones aplicando el modelo sigmoideo (Angeloni et al., 2017) que incluyen los ajustes a datos empíricos obtenidos para diferentes híbridos alto oleico permitieron determinar que, actualmente, no se alcanza el máximo porcentaje de ácido oleico en el 50% de los híbridos estudiados, para algunas fechas de siembra, aún en las localidades más cálidas. Las mismas simulaciones mostraron que en un escenario futuro de calentamiento global, el 30% de los híbridos estudiados podría no alcanzar el máximo porcentaje de ácido oleico en las localidades más frías (Angeloni et al., 2017). A su vez, en esta tesis, fue posible definir las temperaturas que permitirían evaluar fenotípicamente el porcentaje de ácido oleico en un gran número de experimentos (Cap 3). En los programas de mejoramiento, la identificación de híbridos alto oleico con máximos porcentajes de ácido oleico es costosa e insume mucho tiempo. Para esto, las plantas deben ser cultivadas en un amplio rango de temperaturas durante el llenado de granos con el fin de generar una clasificación y seleccionar aquellos genotipos con valores promedios más altos. Aplicando el modelo sigmoideo de respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna, se determinaron temperaturas claves que podrían facilitar la identificación de los mejores genotipos alto oleico mediante el fenotipado de altos

porcentajes de ácido oleico con un bajo número de experimentos (por ejemplo, en condiciones controladas o semi controlados como cámaras de crecimiento o invernaderos). Aunque el fenotipado del porcentaje de ácido oleico en condiciones controladas o semi controladas resultaría difícil en las primeras etapas del proceso de mejoramiento, en las que un gran número de genotipos es frecuentemente evaluado, podría ser útil durante las últimas etapas para confirmar la clasificación de los materiales genéticos seleccionados. Una alternativa interesante en las primeras etapas del mejoramiento sería realizar el fenotipado del porcentaje de ácido oleico a campo seleccionando los ambientes o las localidades.

Los métodos utilizados en esta tesis para identificar los ambientes o combinaciones de ambientes para el fenotipado en Argentina, podrían aplicarse con el mismo objetivo para las diferentes regiones del mundo donde se cultiva girasol. Siguiendo el mecanismo propuesto para determinar temperaturas claves para fenotipar altos porcentajes de ácido oleico, el modelo bi-lineal establecido en esta tesis para la respuesta del peso y porcentaje de aceite a la temperatura, podría aplicarse para delimitar zonas que permitan obtener máximos pesos y porcentajes de aceite. Así, el plateau de la función bi lineal representa la máxima respuesta a la temperatura, tanto en lo que se refiere a peso de granos como al porcentaje de aceite. Considerando las temperaturas definidas por el punto de inflexión de la función, en regiones cuya temperatura media durante el llenado no supere 21°C se lograrían fenotipar genotipos tradicionales con altos peso de granos. Alternativamente, zonas o localidades con 17°C de temperatura media en el llenado, servirían para fenotipar genotipos con elevados porcentajes de aceite. En este sentido, un logro importante para favorecer los planes de mejoramiento sería identificar las temperaturas que posibiliten fenotipar todos los componentes de rendimiento y calidad.

El fenotipado del porcentaje de ácido oleico podría abordarse también teniendo en cuenta las respuestas aditivas reportadas (Echarte et al, 2010). En este sentido, con los parámetros del modelo aditivo establecido para la respuesta del porcentaje de ácido oleico al efecto conjunto de la temperatura y la radiación solar interceptada (Echarte et al, 2010), podrían identificarse ambientes con alta temperatura y radiación solar interceptada, en los que se asegure la producción de aceites con altos porcentajes de ácido oleico. Dada la respuesta aditiva entre radiación solar interceptada y temperatura mínima nocturna, los resultados sugieren que una manera simple para mejorar la eficiencia de fenotipado de la respuesta de ácido oleico a MNT en cualquier ambiente sería mediante el raleo de plantas en fin de floración en cultivos sembrados a una densidad normal. Esto resultaría en altos niveles de radiación solar interceptada por planta, para la temperatura que se registre en dicho ambiente. Esto sería útil en híbridos tradicionales, cuyo porcentaje de ácido oleico en el aceite responde a la radiación solar interceptada. El efecto de la radiación solar interceptada por las plantas merece ser estudiado en

profundidad para determinar la respuesta de híbridos de girasol alto oleico. En este sentido se ha observado que la RSI por planta durante el llenado de granos afectó la composición ácida de genotipos de girasol alto esteárico-alto oleico (Martínez *et. al.*, 2012).

5.3 PERSPECTIVAS

En esta tesis se caracterizaron las respuestas del peso y calidad de los granos de híbridos de girasol con diferente composición ácida potencial a las variaciones de la temperatura y la radiación solar interceptada por planta. De los resultados obtenidos y presentados aquí surgen algunos interrogantes no resueltos en esta tesis. A continuación, se presentan dichos interrogantes y la manera en que podrían abordarse.

Uno de los resultados más importantes originados en esta tesis surgió del estudio de la respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna en 17 híbridos alto oleico, permitiendo demostrar que el modelo sigmoideo es aplicable a híbridos con composición ácida diferenciada. En otras especies la respuesta del porcentaje de oleico a la temperatura ha sido descrita mediante modelos de tipo lineal. Es posible que esto se deba a que el número de experimentos, especialmente a baja y alta temperatura haya sido bajo y o que el rango de temperaturas haya sido menor que el explorado en esta tesis. *Sería interesante por lo tanto conocer si el modelo de respuesta del porcentaje de ácido oleico a la temperatura mínima nocturna es aplicable otras especies oleaginosas.*

Para ello las redes de ensayos territoriales posibilitan contar con datos de componentes de rendimiento y calidad de genotipos cultivados en distintas zonas las que representan condiciones ambientales diferentes. Como estos ensayos se realizan en fechas de siembra óptima, se podrían complementar con algunos experimentos, especialmente para explorar altas y bajas temperaturas que no fueran cubiertas por dichos ensayos.

El uso de datos de estos ensayos en girasol, permitió realizar un estudio amplio aplicando el modelo de respuesta sigmoideo, con el cual se definieron temperaturas claves para evaluar fenotípicamente porcentajes de ácido oleico. Aplicando la misma metodología *se podrían definir temperaturas para evaluar fenotípicamente la respuesta a la temperatura mínima nocturna de híbridos tradicionales.*

El estudio de la temperatura y la radiación solar interceptada sobre el peso de granos y porcentaje de aceite, posibilitó caracterizar la respuesta de estos componentes del rendimiento a la acción individual y conjunta de ambos factores ambientales. El patrón de respuesta bi-lineal determinado en condiciones controladas en esta tesis para el peso de granos y porcentaje de

aceite, también fue aplicado para estudiar el efecto de la temperatura en olivo (García-Inza, 2014). *En este sentido, al ser el mismo patrón de respuesta para estas dos especies, podría ser que este modelo se exprese en otras especies para explicar el efecto de la temperatura.* Para investigar este aspecto, serían de utilidad experimentos en condiciones controladas o en el campo utilizando dispositivos que aumenten la temperatura de los frutos como el utilizado por (García-Inza, 2014).

Sería de gran utilidad aplicar este modelo para evaluar la variabilidad genética de la respuesta utilizando un conjunto mayor de híbridos de girasol. Esto permitiría avanzar en la comprensión de la variabilidad natural del peso y porcentaje de aceite en condiciones de campo.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbate, P.E., F.H. Andrade, J.P. Culot y P.S. Bindraban. 1997. Grain yield in wheat: effects of radiation during spike growth period. *Field Crops Research*, 54, 245-257.
- Agüero, M.E., V.R. Pereyra, L.A.N. Aguirrezábal y J. Lúquez. 1999. Rendimiento de grano y porcentaje de aceite de híbridos de girasol "alto oleico" cultivados en Argentina. *Agriscientia*. Vol. XVI: 49-53.
- Aguirrezábal, L.A.N, G.A. Orioli, L.F. Hernández, V.R. Pereyra, y J.P. Miravé. 1996. Girasol: aspectos fisiológicos que determinan el rendimiento. Editorial Unidad Integrada Balcarce. ISBN 950-9853 71-2. pp. 111.
- Aguirrezábal, L., P. Martre, G. Pereyra-Irujo, M. Echarte, N. Izquierdo. 2014. Improving grain quality: ecophysiological and modeling tools to develop management and breeding strategies. In: Sadras, V., Calderini, D. (Eds.). *Crop Physiology: Applications for Genetic Improvement and Agronomy*. Academic Press, London, pp. 423–465.
- Aguirrezábal, L., P. Martre, G. Pereyra-Irujo, N. Izquierdo, V. Allard. 2009. Management and breeding strategies for the improvement of grain and oil quality. In: Sadras, V., Calderini, D. (Eds.). *Crop Physiology: Applications for Genetic Improvement and Agronomy*. Academic Press, Elsevier, San Diego, pp.387–421.
- Aguirrezábal, L.A.N. y V.R. Pereyra. 1998. Girasol. En “Calidad de Productos Agrícolas. Bases ecofisiológicas, genéticas y de manejo agronómico”. Aguirrezábal, L.A.N. y Andrade, F.H. (Eds.). Editorial Unidad Integrada Balcarce-Ediciones técnicas Morgan- Publicaciones Nidera (ISBN N°987-521-001-3). pp. 140-185.
- Aguirrezábal, L.A.N., Y. Lavaud, G.A.A. Dosio, N. G. Izquierdo, F.H. Andrade y L.M. González. 2003. Weight per seed and oil concentration in a sunflower hybrid are accounted for by intercepted solar radiation during a definite period of seed filling. *Crop Science* 43: 153-161.
- Akaike, H. 1974. A new look at the Statistical Model Identification. *IEEE Transactions on Automatic Control*, AC-19: 716-723.
- Alberio, C., N.G. Izquierdo, T. Galella, S. Zuil, R. Reid, A. Zambelli y L.A.N. Aguirrezábal. 2016. A new sunflower high oleic mutation confers stable oil grain fatty acid composition across environments. *Eur. J. Agron.* 73, 25–33.
- Anastasi, U., Santonoceto C., Giuffrè A.M., Sortino O., Gresta F., Abbate V. 2010. Yield performance and grain lipid composition of standard and oleic sunflower as affected by water supply. *Field Crops Research* 119:145-153.

- Andrade, F. H., V. O. Sadras, C. R. C. Vega y L. Echarte. 2005. Physiological Determinants of Crop Growth and Yield in Maize, Sunflower and Soybean. *Journal of Crop Improvement* Vol. 14, Iss. 1-2
- Andrade, F.H. y M.A. Ferreiro. 1996. Reproductive growth of maize, sunflower and soybean at different source levels during grain filling. *Field Crops Research*. 48: 155–165.
- Andrade, F.H., L.A.N. Aguirrezabal y R.H. Rizzali. 2000. Crecimiento y rendimiento comparados. In: Andrade, F.H. y Sadras, V.O. (Eds.), *Bases para el manejo del maíz, el girasol y la soja*. Unidad Integrada Balcarce, Argentina, pp.61–96.
- Angeloni, P.N., M.M. Echarte, G. Pereyra-Irujo, N. Izquierdo y L. Aguirrezabal. 2017. Fatty acid composition of high oleic sunflower hybrids in a changing environment. *Field Crops Res* 202:146-157.
- Aro, A., M. Jauhiainen, R. Partanen, I. Salminen y M. Mutanen 1997. Stearic acid, trans fatty acid and dairy fat: effects on serum and lipoprotein lipids, apoproteins, lipoproteins, lipoprotein(a), and lipid transfer proteins in healthy subjects. *Am. J. Clin. Nutr.*, 65 (5), 1419.
- ASAGIR. 2012. Asociación Argentina de Girasol. <http://www.asagir.org.ar>
- Baud, S. y L. Lepiniec. 2010. Physiological and developmental regulation of seed oil production. *Progress in Lipid Research* 49 235–249.
- Bianculli, M.L., L.A.N. Aguirrezabal, G A. Pereyra-Irujo y M.M. Echarte. 2016. Contribution of incident solar radiation on leaves and pods to soybean seed weight and composition. *Europ. J. Agronomy* 77: 1–9.
- Binkoski, A., P. Kris-Etherton, T. Wilson, M. Mountain, y R. Nicolosi. 2005. Balance of unsaturated fatty acids is important to a cholesterol-lowering diet: Comparison of mid-oleic sunflower oil and olive oil on cardiovascular disease risk factors. *J. Am. Diet. Assoc.* 105, 1080 – 1086.
- Bonhomme, R. 1993. The solar radiation: characterization and distribution in the canopy. In: Varlet-Grancher, C., Bonhomme, R., Sinoquet, H. (Eds.), *Crop Structure and Light Microclimate. Characterization and Applications*. INRA Editions, Versailles, France, pp.17–28.
- Canvin, D. 1965. The effect of temperature on the oil content and fatty acid composition of the oils from several seed crops. *Canadian Journal of Botany* 43: 63-69.
- Carrera, C, M. J. Martínez, J. Dardanelli, y M. Balzarini. 2009. Water deficit effect on the relationship between temperature during the seed fill period and soybean seed oil and protein concentrations. *Crop Sci.* 49:990–998.

- Charbonnier, A. 1982. Main conclusion dawn from the International Symposium on the recent medical researches on the value of the olive oil to health, Paris, 1.
- Charles-Edwards, D.A. y R.J. Lawn. 1984. Light interception by grain legume row crops. *Plant Cell Environ.* 7, 247–251.
- Chimenti, C.A., A.J. Hall y M. Sol López. 2001. Embryo-growth rate and duration in sunflower as affected by temperature. *Field Crops Research*. 69: 81-88.
- Chimenti, C.A. y A.J. Hall. 2001. Grain number responses to temperatura during floret differentiation in sunflower. *Field Crops Research* 72: 177-184.
- CIARA-CEC. 2013. Cámara de la industria aceitera de la República Argentina. Centro de exportadores de cereales. www.ciaracec.com.ar.
- CODEX. Alimentarius International Food Standards. 2013. <http://www.codexalimentarius.org/>.
- Connor, D.J. y V.O. Sadras 1992. Physiology of yield expression .in sunflower. *Field Crops Research*, 30: 333-389.
- Connor, D.J. y A.J. Hall. 1997. Sunflower physiology. pp. 113–182In: A.A Schneiter (ed.), *Sunflower technology and production*. Agronomy Monograph No. 35, ASA, CSSA, SSSA, Madison, Wisconsin.
- Crupkin, M. y A. Zambelli. 2008. Comprehensive reviews in food science and food safety, 7 (3): 271.
- De Caterina, R., J.K. Liao y P. Libb. 2000. Fatty acid modulation of endotelial activation. *Am. J. Clin. Nutr.*, 71 (1 Suppl.): 213S-223S.
- De La Vega, A.J. y S.C. Chapman. 2006. Defining sunflower selection strategies for a highly heterogeneous target population of environments. *Crop Sci.* 46:136–144.
- De La Vega, A.J. y S.C. Chapman. 2010. Mega-environment differences affecting genetic progress for yield and relative value of component traits. *Crop Sci.* 50: 574–583.
- De La Vega, A.J., S.C. Chapman y A.J. Hall. 2001. Genotype by environment interaction and indirect selection for yield in sunflower. I. Two-mode pattern analysis of oil and biomass yield across environments in Argentina. *Field Crops Res.* 72: 17–38.
- De La Vega, A.J., I.H. De Lacy y S.C. Chapman. 2007. Progress over 20 years of sunflower breeding in central Argentina. *Field Crops Res.* 100, 61–72.
- Díaz Zorita, M. 2005. Girasol. En: Echeverría, H.E., García, F.O.(Eds.). *Fertilidad del suelo y fertilización de cultivos*. INTA, Balcarce, Argentina, pp.301–315.
- Dosio, G.A.A. 1998. Efecto de la radiación interceptada durante el llenado de los frutos sobre los componentes del rendimiento de aceite de girasol. Tesis Magíster

- Scientiae en Producción Vegetal. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina. 98 pp.
- Dosio, G.A.A., N.G. Izquierdo, L.A.N. Aguirrezábal, F.H. Andrade y V.R. Pereyra. 2000. Solar radiation intercepted during seed filling and oil production in two sunflower hybrids. *Crop Science* 40(6):1637-1640.
- Durrett, T.P., C. Benning y J. Ohlrogge. 2008. Plant triacylglycerols as feedstocks for the production of biofuels. *The Plant Journal*, 54(4), 593-607.
- Echarte, M.M., I. Alberdi y L.A.N. Aguirrezábal. 2012. Post-flowering assimilate availability regulates oil fatty acid composition in sunflower grains. *Crop Sci.*52, 818–829.
- Echarte, M.M., G.A. Pereyra Irujo, M. Covi, N.G. Izquierdo y L.A.N. Aguirrezábal. 2009. Producing better sunflower oils in a changing environment. In: *Advances in fats and oils research*. Ed Research Signpost, Kerala (India), pp 1-23.
- Echarte, M.M., P. Angeloni, F. Jaimes, J. Tognetti, N.G. Izquierdo, O. Valentinuz y L.A.N. Aguirrezábal. 2010. Night temperature and intercepted solar radiation additively contribute to oleic acid percentage in sunflower oil. *Field Crops Research*. 119 (1): 27-35.
- Echarte, M.M., L.A. Puntel y L.A.N. Aguirrezábal. 2013. Assessment of the critical period for the effect of intercepted solar radiation on sunflower oil fatty acid composition. *Field Crops Research* 149 (2013) 213–222.
- Eckel, R.H., S. Borra, A.H. Lichtenstein y S.Y. Yin-Piazza. 2007. Understanding the complexity of trans fatty acid reduction in the American diet. *Circulation, AHA*, 115:2231-2246.
- FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2012. Grasas y ácidos grasos en nutrición humana. Consulta de expertos. N° 91. Edición Granada, España.
- Fernández-Martínez, J.M., V. Pérez-Viche, L.Velasco. 2009. Sunflower. En: *Oil Crops*, Vollman, J., I. Rajcan (eds), Springer, New York, pp 155-232.
- Fernández-Moya, V., E. Martínez-Force y R. Garcés. 2005. Oils from improved high stearic acid sunflower seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 5326–5330.
- Fischer, R.A. 1985. Number of kernels in wheat crops and the influence of solar radiation and temperature. *Journal of Agricultural Science*, 105, 447- 461.
- Flagella, Z., Rotunno, T., Tarantino, E., Di Caterina, R., De Caro, A., 2002. Changes in seed yield and oil fatty acid composition of high oleic sunflower (*Helianthus annuus* L.)

- hybrids in relation to the sowing date and the water regime. *Eur. J. Agron.* 17, 221–230.
- Gallo, K.P. y C.S.T. Daughtry. 1986. Techniques for measuring intercepted and absorbed photosynthetically active radiation in corn canopies. *Agron. J.* 78:752-756.
- Garcés, R. y Mancha, M. 1991. In vitro oleate desaturase in developing sunflower seeds. *Phytochemistry* 30 (7): 2127-2130.
- Garcés, R.; C. Sarmiento y M. Mancha. 1992. Temperature regulation of oleate desaturase in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed. *Planta*, 186: 461-465.
- García-Inza, G.P., D.N. Castro, A.J. Hall y M.C. Rousseaux. 2014. Responses to temperature of fruit dry weight, oil concentration, and oil fatty acid composition in olive (*Olea europaea* L. var. 'Arauco'). *Europ. J. Agronomy* 54 107– 115.
- Goyne, P., B. Simpson, D. Woodruff y J. Churchett. 1979. Environmental influence on sunflowers achene growth, oil content and oil quality. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 19: 82-88.
- Grieu, P., P. Maury, P. Debaeke y A. Sarrafi. 2008. Améliorer la tolérance à la sécheresse du tournesol: apports de l'écophysiologie et de la génétique. *Innovations Agronomiques* 2, 37–51.
- Grunvald, A.K., Portela de Carvalho, C.G., Santos Leite, R., Gontijo Mandarino, J.M., de Bastos Andrade, C.A., Amabile, R.F., Campos Godinho, V.P., 2013. Influence of temperature on the fatty acid composition of the oil from sunflower genotypes grown in tropical regions. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 90, 545–553.
- Hall, A.J., C. Chimenti, F. Vilella y G. Freier. 1985. Timing of water stress effects on yield components in sunflower. In: *Proceedings of the 11th International Sunflower Conference*, Mar del Plata, Argentina, pp. 131–136.
- Hall, A.J., D. Whitfield y D. Connor. 1990. Contribution of pre-anthesis assimilates to grain-filling in irrigated and water stressed sunflower crops II. Estimates from a carbon budget. *Field Crops Res.* 24, 273 – 294.
- Hall, A.J. 2004. Advances in the physiology of the sunflower crop: A ten-year progress report. p. 29–42. In *Proc. Int. Sunflower Conf.*, 16th, Fargo, ND. 29 Aug.–2 Sept. 2004. Int. Sunflower Assoc., Paris.
- Hall, A.J., C. Feoli, J. Ingaramo y M. Balzarini. 2013. Gaps between farmer and attainable yields across rainfed sunflower growing regions of Argentina. *Field Crops Res.* 143, 119–129.

- Hammer, G., M. Cooper, F. Tardieu, S. Welch, B. Walsh, F. van Eeuwijk, S. Chapman y D. Podlich. 2006. Models for navigating biological complexity in breeding improved crop plants. *Trends Plant Sci.* 11, 587–593.
- Hardwood, J.L. 2005. Fatty acid biosynthesis. In: Murphy DJ, ed. *Plant lipids*. Oxford: Blackwell Publishing, 27–66.
- Harris, H., J. McWilliam y W. Mason. 1978. Influence of temperature on oil content and composition of sunflower seed. *Australian Journal of Agricultural Research*. 29: 1203-1212.
- Heldt, H-W. y B. Piechulla. 2011. *Plant Biochemistry*. Academic Press of Elsevier. 4th edition.
- Heyden, S. 1994. Polyunsaturated and monounsaturated fatty acid the diet to prevent coronary heart disease via cholesterol reduction. *Ann. Nutr. Metab.* 38, 117–122.
- Hiroyasu Iso, M.D., M.D. Shinichi Sato, Utako Umemura, PhD; Minako Kudo; Kazuko Koike, PhD; Akihiko Kitamura, MD; Hironori Imano, MD; Tomonori Okamura, MD; Yoshihiko Naito, MD; Takashi Shimamoto, MD. Linoleic Acid, Other Fatty Acids, and the Risk of Stroke. *Stroke*. 2002; 33: 2086-2093
- Huang, A.H. 1992. Oil bodies and oleosins in seeds. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 43: 177–200.
- Irving, D., M. Shannon, V. Breda y B. Mackey. 1988. Salinity effects on yield and oil quality of high-linoleate and high-oleate cultivars of safflower. *J. Agric. Food Chem.* 36, 37–42.
- Islam, M.S. y J.I.L. Morison. 1992. Influence of solar radiation and temperature on irrigated rice grain in Bangladesh. *Field Crops research* 30: 13-28.
- IUPAC. Unión Internacional de Química Pura y Aplicada, Commission on Biochemical Nomenclature. 1978. The nomenclature of lipids. *Biochem. J.*, 171: 21-35.
- Izquierdo, N.G. y L.A.N. Aguirrezábal. 2010. Recientes avances de la ecofisiología de la calidad de aceites. Su aplicación al manejo de cultivos para obtener aceites de alta calidad. En: *Nuevos avances en ecofisiología de cultivos de granos*. FAUBA. Buenos Aires. p. 213 – 233.
- Izquierdo, N.G. y L.A.N. Aguirrezábal. 2008. Genetic variability in the response of fatty acid composition to minimum night temperature during grain filling in sunflower. *Field Crops Research* 106: 116–125
- Izquierdo, N.G., L.A.N. Aguirrezábal, F. Andrade y C. Cantarero. 2006. Modeling the response of fatty acid composition to temperature in a traditional sunflower hybrid. *Agronomy Journal* 98:451-461.

- Izquierdo, N.G., L.A.N. Aguirrezábal, F. Andrade y V. Pereyra. 2002. Night temperature affects fatty acid composition in sunflower oil depending on the hybrid and the phenological stage. *Field Crops Research*. 77: 115-126.
- Izquierdo, N.G., G.A.A. Dosio, L.A.N. Aguirrezábal, M. Cantarero y J. Lujan. 2008. Weight per grain, oil concentration, and solar radiation intercepted during grain filling in black hull and striped hull sunflower hybrids. *Crop Sci*. 48:688–699.
- Izquierdo, N.G., L.A.N. Aguirrezábal, E. Martínez-Force, R. Garcés, V. Paccapelo, F. Andrade, R. Reid, y A. Zambelli. 2013. Effect of growth temperature on the high stearic and high stearic-high oleic sunflower traits. *Crop & Pasture Science*, 64: 18–25.
- Jones, H.G., 2014. *Plants and Microclimate: A Quantitative Approach to Environmental Plant Physiology*, 3rd edition. Cambridge University Press, ISBN 978-0-521-27959-8.
- Kabbaj, A., V. Vervoort, A. Abbott, M. Tersac y A. Bervillé. 1996. Expression of stearate oleate and linoleate desaturase genes in sunflower with normal and high oleic contents. *Helia* 19, 1 – 17.
- Katan, M.B., P.L. Zock y R.P. Mensink. 1994. Effects of fats and fatty acids on blood lipids in humans: an overview. *Am. J. Clin. Nutr.*, 60(6 Suppl.): 1017S-1022S.
- Keys, A., A. Menotti, M.J. Karvonen, C. Aravanis, H. Blackburn, R. Buzina, B.S. Djordjevic, A.S. Dontas, F. Fidanza, M.H. Keys, D. Kromhout, S. Nedeljkovic, S. Punsar, F. Eccareccia y H. Toshima. 1986. The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *Am. J. Epidemiol.*, 124: 903-915.
- Kiniry, J.R., R. Blanchet, J.R. Williams, V. Texier, C.A. Jones y M. Cabelguenne, 1992. Sunflower simulation using the EPIC and ALMANAC models. *Field Crops Res.* 30: 403–423.
- Kris-Etherton, P.M., A.E. Griel, T.L. Psota, S.K. Gebauer, J. Zhang y T.D. Etherton. 2005. Dietary stearic acid and risk of cardiovascular disease: intake, sources, digestion, and absorption. *Lipids*. 40: 1193-200.
- Labalette, F., P. Jouffret y A. Merrien. 2012. Oleic Sunflower production: current situation and trends for the future. *Proceeding of 18th International Sunflower Conference*.
- Lacombe, S., I. Souyris y A.J. Bervillé. 2009. An insertion of oleate desaturase homologous sequence silences via siRNA the functional gene leading to high oleic acid content in sunflower seed oil. *Mol. Genet. Genomics* 281, 43–45

- Lagravère, T., D. Kleiber y J. Dayde. 1998. Conduites culturales et performances agronomiques du tournesol oléique: réalités et perspectives. OCL, Vol. 5(6): 477-485
- Lehninger, A., D.Y. Nelson y M. Cox. 1993. Principles of Biochemistry. Second edition. Worth Publishers, New York. 1013 pp.
- León, A.J., A.D. Zambelli, R.J. Reid, M.M. Morata y M. Kaspar. 2013. Nucleotide sequences mutated by insertion that encode a truncated oleate desaturase protein, proteins, methods and uses. Patent WO 2013/004281 A1, January 10,
- López Pereira, M., N. Trápani, y V.O. Sadras. 2000. Genetic improvement of sunflower in Argentina between 1930 and 1995. III. Dry matter partitioning and grain composition. Field Crops Res. 67, 215 – 221.
- López Pereira, M., A. Berney, A.J. Hall y N. Trapani. 2008. Contribution of preanthesis photoassimilates to grain yield: Its relationship with yield in Argentine sunflower cultivars released between 1930 and 1995. Field Crops Res. 105:88–96.
- López Pereira, M., V.O. Sadras y N. Trápani. 1999. Genetic improvement of sunflower in Argentina between 1930 and 1995. I. Yield and its components. Field Crops Research, 62: 157-166.
- Lúquez, J.L., L.A.N. Aguirrezábal, M.E. Agüero y V.R. Pereyra. 2002. Stability and Adaptability of Cultivars in Non-Balanced Yield Trials. Comparison of Methods for Selecting "High Oleic" Sunflower hybrids for Grain Yield and Quality. Journal of Agronomy and Crop Science 188: 222-234.
- Mantese, A., D. Medan y A.J. Hall. 2006. Achene structure, development and lipid accumulation in sunflower cultivars differing in oil content at maturity. Annals of Botany 97: 999–1010.
- Martínez, R.D., N.G. Izquierdo, R. González Belo, L.A.N. Aguirrezábal, F. Andrade y R. Reid. 2012. Oil yield components and oil quality of high stearic-high oleic sunflower genotypes as affected by intercepted solar radiation during grain filling. Crop & Pasture Science, 2012, 63, 330–337.
- Mensink, R., P.L. Zock y M.B. Katan. 1994. Fat, fatty acids, lipoproteins and coronary heart disease. Hart Bull. 25 (1994) 111-115.
- Mensink, R.P. y M.B. Katan. 1992. Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. A meta-analysis of 27 trials. Arterioscler. Thromb., 12(8): 911-91.
- Mensink, R.P., P.L. Zock, A.D. Kester y M.B. Katan. 2003. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and

- a polipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am. J. Clin. Nutr.* 77,1146–1155.
- Merrien, A. 1992. *Physiologie du tournesol*. 66 p. CETIOM. Paris.
- Messina, C., G. Hammer, Z. Dong, D. Podlich y M. Cooper. 2009. Modeling crop improvement in a G×E×M framework via gene–trait–phenotype relationships. In: Sadras, V.O. Calderini, D.(Eds.) *Crop Physiology: Applications for Genetic Improvement and Agronomy*. Academic Press, Elsevier, San Diego, pp.235–265.
- Miquel, M. y J. Browse. 1995. Lipid biosynthesis in developing seeds. In: Kigel J, Galili G, eds. *Seed development and germination*. New York: Marcel Dekker; p. 69–93.
- Mohammed, A.R. y L. Tarpley. 2009. Impact of high night time temperature on respiration, membrane stability, antioxidant capacity, and yield of rice plant. *Crop Sci.* 49,313–322.
- SIIA, MAGyP. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca 2017. www.siiia.gob.ar
- Mozaffarian, D. y R. Clarke. 2009. Quantitative effects on cardiovascular risk factors and coronary heart disease risk of replacing partially hydrogenated vegetable oils with other fats and oils. *Eur. J. Clin. Nutr.* 63 (2): S22-S33.
- Nagao, A. y M. Yamazaki. 1983. Lipid of sunflower seeds produced in Japan. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 60,1654–1658.
- Oil World. 2013. www.oilworld.biz
- Piper, E. y K. Boote. 1999. Temperature and cultivar effects on soybean seed oil and protein concentrations. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 76, 1233 – 1241.
- Pleite, R., D. Rondanini, R. Garces y E. Martínez-Force. 2008. Day/night variation in fatty acids and lipids biosynthesis in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds. *Crop Sci.* 48, 1952–1957.
- Ploschuk, E.L. y A.J. Hall. 1995. Capitulum position in sunflower affects grain temperature and duration of grain filling. *Field Crops Res.* 44:111-117.
- Quin, F.M. 1981. Night respiration of a maize crop in the low land humid tropics. *J. Appl. Ecol.* 18,497–506.
- Quiroz, F., V. Pereyra y L.A.N. Aguirrezábal. 2000. Jornada anual de actualización profesional, in: I. CIC, INTA Balcarce, Facultad de Ciencias Agrarias (Ed.), *Jornada anual de actualización profesional 17° Edición*, CONICET, Mar del Plata, Buenos Aires.
- Rawson, H.M., R.L. Dunstone, M.J. Long y J.E. Begg. 1984. Canopy development, light interception and seed production in sunflower as influenced by temperature and radiation, *Aust. J. Plant Physiol.* 11: 255–265.

- Reddy, W.S. y M.B. Katan. 2004. Diet, nutrition and the prevention of hypertension and cardiovascular diseases. Special Issue: Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases: Scientific Background Papers of the Joint WHO/FAO Expert Consultation (Geneva, 28 Jan–1 Feb 2002) *Public Health Nutr.* 7: 167–186.
- Reijnders, L. 2006. Conditions for sustainability of biomass based fuel use. *Energy Policy* 34, 863-876.
- Reymond, M., B. Muller, A. Leonardi, A. Charcosset y F. Tardieu. 2003. Combining quantitative trait loci analysis and an ecophysiological model to analyze the genetic variability of the responses of maize leaf growth to temperature and water deficit. *Plant Phys.* 131, 664–675.
- Roche, J., A. Bouniols, Z. Mouloungui, T. Barranco y M. Cerny. 2006. Management of environmental crop conditions to produce useful sunflower oil components. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 108: 287 – 297.
- Rondanini, D., A. Mantese, R. Savin y A. J. Hall. 2006. Responses of sunflower yield and grain quality to alternating day/night high temperature regimes during grain filling: Effects of timing, duration and intensity of exposure to stress. *Field Crops Research* 96: 48–62.
- Rondanini, D., R. Savin y A. J. Hall. 2003. Dynamics of fruit growth and oil quality of sunflower (*Helianthus annuus* L.) exposed to brief intervals of high temperature during grain filling. *Field Crops Research* 83: 79–90.
- Sadras, V.O. y F.J. Villalobos. 1994. Physiological characteristics related to yield improvement in oil-seed sunflower (*Helianthus annuus* L.). In: Slafer G, (ed.), *Genetic improvement of field crops: current status and development*. New York, NY: Marcel Dekker, 287–320.
- Sadras, V.O. y F.J. Villalobos. 1996. Physiological characteristics related to yield improvement in sunflower (*Helianthus annuus* L.). En: Slafer, G.A. (Ed.), *Genetic improvement of field crops*. Marcel Dekker, New York. Pp. 287-320.
- Santalla, E.M., G.A.A. Dosio, S.M. Nolasco y L.A.N Aguirrezábal. 2002. The effects of intercepted solar radiation on sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed composition from different head positions. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 79: 69 – 74.
- Santonoceto, C., U. Anastasi, E. Riggi y V. Abbate. 2002. Accumulation Dynamics of Dry Matter, Oil and Major Fatty Acids in Sunflower Seeds in Relation to Genotype and Water Regime. *Ital. J. Agron.*, 7, 1, 3-14

- Sarmiento, C., R. Garcés y M. Mancha. 1998. Oleate desaturation and acyl turnover in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed lipid during rapid temperature adaptation. *Planta* 205: 595-600.
- Schneiter, A.A. y J.F. Miller. 1981. Description of sunflower growth stages. *Crop. Science* 21: 901-903.
- Schwartzbeck, J.L., S. Jung, A.G. Abbotte, E. Mosley, S. Lewis, G.L. Pries y G.L. Powell. 2001. Endoplasmic oleoyl-PC desaturase references the second double bond. *Phytochemistry* 57:643-652.
- Seiler, G.J. 1986. Analysis of the relationships of environmental factors with seed oil and fatty acid concentrations of wild annual sunflower. *Field Crops Res.* 15, 57-72.
- SENASA. 2006. Norma de Calidad para ser Aplicada en la Comercialización del Girasol Mercado Interno, Exportación e Importación (Resolución n° 1075/ ANEXO IX). En: www.senasa.gov.ar
- Serrano-Vega, M., E. Martínez-Force y R. Garcés. 2005. Lipid characterization of seed oils from high-palmitic, low palmitoleic, and very high-stearic acid sunflower lines. *Lipids* 40, 369 – 374.
- Shuppert, G.F., S. Tang, M B. Slabaugh y S.J. Knapp. 2006. The sunflower high-oleic mutant Ol carries variable tandem repeats of FAD2-1, a seed-specific oleoyl-phosphatidyl choline desaturase. *Molecular Breeding* 17: 241-256.
- SIIA. 2017. Sistema integrado de información agropecuaria. MAGyP. www.siiia.gov.ar
- Silver, J., C. Rochester, D. Bishop y H. Harris. 1984. Unsaturated fatty acid synthesis during the development of isolated sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds. *J. Exp. Bot.* 35:1507-1515.
- Sobrinho, E., A.M. Tarquis y M. Cruz Díaz. 2003. Modeling the oleic acid content in sunflower oil. *Agron.J.* 95,329-334.
- Soldatov, K.I. 1976. Chemical mutagenesis in sunflower breeding. *Proc. 7th International Sunflower Conference*, p. 352-357.
- Somerville C. y J. Browse. 1996. Dissecting desaturation: plants prove advantageous. *Trends in Cell Biology* 6: 148-153.
- Sosa, L., H. Echeverría, G. Dosio y L.A.N. Aguirrezábal. 1999. Evaluación de la nutrición nitrogenada de girasol cultivado en Balcarce (Buenos Aires, Argentina). *Ciencia Suelo* 17:20-26.
- Steer, B., P. Hocking, A. Kortt y C. Roxburgh. 1984. Nitrogen nutrition of sunflower (*Helianthus annuus* L.): Yield components, the timing of their establishment and seed characteristics in response to nitrogen supply. *Field Crops Res.* 9, 219 – 236.

- Steer, B. y G. Seiler. 1990. Changes in fatty acid composition of sunflower (*Helianthus annuus*) seeds in response to time of nitrogen application, supply rates and defoliation. *J. Sci. Food Agric.* 51, 11–26.
- Stumpf, P.K. 1980. Lipids: Structure and Function. En: Stumpf, P.K y E.E.Conn (eds) *The Biochemistry of Plants*. Academic Press. New York. Vol 4, p 177-202.
- Sukhija, P.S. y D.L. Palmquist. 1988. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feed stuffs and feces. *J. Agric. Food Chem.* 36, 1202–1206.
- Tang, G.Q., W. Novitzky, H. Griffen, S. Hubber y R.E. Dewey. 2005. Oleate desaturase enzymes of soybean: evidence of regulation through differential stability and phosphorylation. *Plant J* 44:433-446.
- Tang, S., A. León, W.C. Bridges y S.J. Knapp. 2006. Quantitative trait loci for genetically correlated seed traits are tightly linked to branching and pericarp pigment loci in sunflower. *Crop Sci.* 46, 721-734.
- Tardieu, F. 2003. Virtual plants: modeling as a tool for the genomics of tolerance to water deficit. *Trends Plant Sci.* 8, 9–14.
- Tarrago-Trani, M.T., K.M. Phillips, L.E. Lemar, y J.M. Holden. 2006. New and existing oils and fats used in products with reduced trans-fatty acid content. *J. Am. Diet. Assoc.*, 106: 867-880.
- Thomas, J.M.G., K.J. Boote, L.H. Allen, M. Gallo-Meagher y J.M. Davis. 2003. Elevated temperature and carbon dioxide effects on soybean seed composition and transcript abundance. *Crop Sci.* 43, 1548 – 1557.
- Trapani, N., A.J. Hall, V.O. Sadras y F. Vilella. 1992. Ontogenetic changes in radiation use efficiency of sunflower (*Helianthus annuus* L.) crops. *Field Crops Res.* 29, 301–316.
- Trémolieres, A.; J. Dubacq y D. Drapier. 1982. Unsaturated fatty acids in maturing seeds of sunflower rape: regulation by temperature and light intensity. *Phytochemistry* 21 (1): 41-45.
- Trentacoste, E. R., C. M. Puertas y V. O. Sadras. 2012. Modelling the intraspecific variation in the dynamics of fruit growth, oil and water concentration in olive (*Olea europaea* L.). *Europ. J. Agronomy* 38: 83– 93.
- Triboï-Blondel, A., B. Bonnemoy, R. Falcimagne, M. Martignac, J. Messaoud, J. Philippon y F. Vear. 2000. The effect of temperature from flowering to maturity on seed composition of high oleic sunflower inbreeds and mid oleic hybrids. *Proceedings of the 15th International Sunflower Conference*. Toulouse, France, I: A-67.

- Unger, P. y J. Thompson. 1982. Planting date effects on sunflower head and seed development. *Agronomy Journal*. 74: 389-395
- Velasco, L., B. Perez-Vich y J. Fernandez-Martinez. 1999. The role of mutagenesis in the modification of the fatty acid profile of oilseed crops. *J. Appl. Genet.* 40, 185 – 209.
- Velasco, L. y J. Fernández-Martínez. 2002. Breeding oilseed crops for improved oil quality *J. Crop Prod.* 5 (1-2): 309-344.
- Vicente, G., M. Martínez y J. Aracil. 2006. A Comparative Study of vegetable oils for biodiesel production in Spain. *Energy Fuels* 20, 394–398.
- Villalobos, F.J., A.J Hall, J.T. Ritchie y F. Orgaz. 1996. OILCROPSUN: a development, growth and yield model for the sunflower crop. *Agron. J.* 88: 403–415.
- Wenting, Zhang, Jia Liu, Xiaoming Hu, Peiying Li, Rehana K. Leak, Yanqin Gao, y Jun Chen. 2015. n-3 Polyunsaturated Fatty Acids Reduce Neonatal Hypoxic/Ischemic Brain Injury by Promoting Phosphatidylserine Formation and Akt Signaling *Stroke*. 46:2943-2950
- Wilson, R.F. 2004. Seed composition. En: Boerma HR y Specht JE (eds), *Soybean: Improvement, Production and Uses*. 3rd edition, ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, USA, pp 621-677.
- Zimmer, D. y D. Zimmerman. 1972. Influence of some diseases on achene and oil quality of sunflower. *Crop Science* 12: 859-861.
- Zock, P.L. 2006. Do favourable effects of increasing unsaturated fat intake on cardiovascular disease risk outweigh the potential adverse effect on body weight? *Int J Obes* 30, S10 – S15
- Zuil, S.G., N.G. Izquierdo, J. Luján, M. Cantarero Y L.A.N. Aguirrezábal. 2012. Oil quality of maize and soybean genotypes with increased oleic acid percentage as affected by intercepted solar radiation and temperature. *Field Crops Research* 127 pp. 203-214.

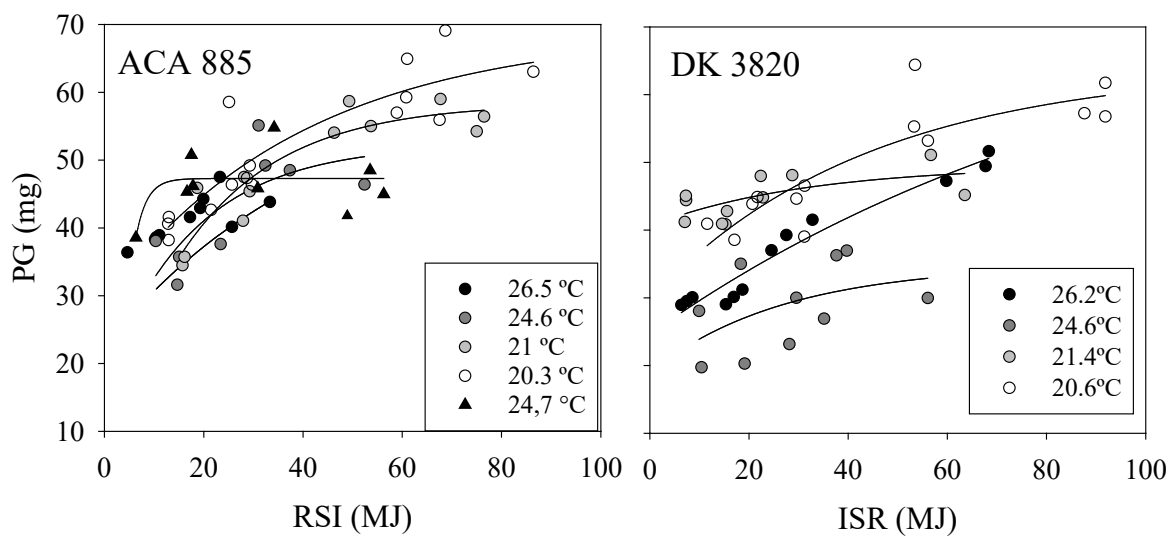


Fig. A.1 Peso final de los granos (PG) en función de la radiación solar interceptada por planta (RSI) acumulada en el período de llenado de granos para híbridos tradicionales (ACA885 y DK3820). Los símbolos corresponden a los experimentos de campo en cada localidad y año. La línea continua representa la Ecuación 3 ajustada a los datos experimentales.

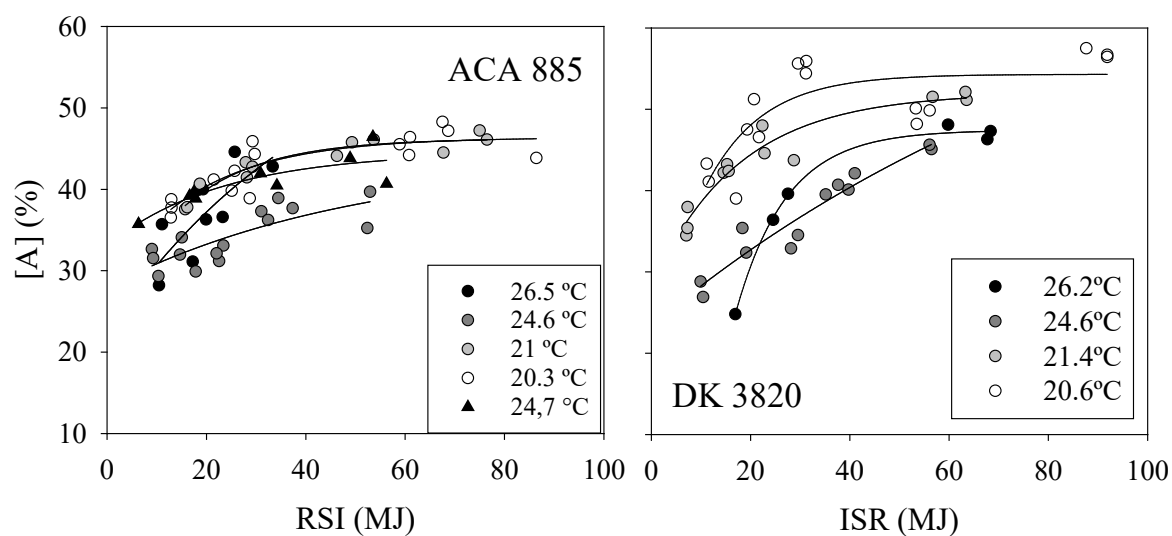


Fig. A.2. Porcentaje de aceite ([A] (%)) en función de la radiación solar interceptada por planta (RSI) acumulada en el período de llenado de granos para híbridos tradicionales (ACA885 y DK3820). Los símbolos corresponden a los experimentos de campo en cada localidad y año. La línea continua representa la Ecuación 3 ajustada a los datos experimentales.