



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL
NORDESTE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN

MODALIDAD TESINA

"Evaluación de las dinámicas de carbohidratos no estructurales y senescencia foliar en híbridos contrastantes de maíz y sorgo"

- **Autor:** *Niklas, Axel.*
- **Asesor:** *Ing. Agr. (Dr.) Fernandez, Javier A.*
- **Lugar de realización:** *Estación experimental de Kansas State University. Manhattan, Kansas, Estados Unidos.*
- **Año:** 2023.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	7
RESUMEN	8
1. INTRODUCCIÓN.....	9
2. OBJETIVOS.....	12
3. MATERIALES Y MÉTODOS	13
3.1 ESTUDIO DE CAMPO	13
3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL – MATERIALES BIOLÓGICOS.....	16
3.3 MEDICIONES Y MOMENTOS DE MUESTREO.....	16
3.4 ANÁLISIS DE LABORATORIO.....	19
3.4.1 Extracción de muestras	19
3.4.2 Preparación de reactivo anthrone	20
3.4.3 Preparación de curva estándar.....	20
3.4.4 Reacción colorimétrica y medición.....	21
3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	22
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
4.1 MAÍZ: DATOS COMPARATIVOS ENTRE HÍBRIDOS HISTÓRICOS	24
4.1.1 Contenido de carbohidratos	24
4.1.2 Índice de área foliar y senescencia	25
4.2 SORGO: DATOS COMPARATIVOS ENTRE HÍBRIDOS HISTÓRICOS.....	27
4.2.1 Contenido de carbohidratos	27
4.2.2 Índice de área foliar y senescencia	28

4.3 COMPARATIVA ENTRE LOS CULTIVOS: MAÍZ Y SORGO	30
4.3.1 <i>Contenido de carbohidratos</i>	30
4.3.2 <i>Índice de área foliar y senescencia</i>	31
4.3.3 <i>Análisis de componentes principales (PCA)</i>	31
5. CONCLUSIONES.....	35
6. BIBLIOGRAFÍA.....	37
7. MATERIAL SUPLEMENTARIO 1.....	40
8. MATERIAL SUPLEMENTARIO 2.....	45

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Resumen general de los ensayos de campo en el que se especifican el manejo agronómico, genotipos utilizados e indicadores de suelo para los cultivos de maíz y sorgo.....	15
Tabla 2. Mediciones y momentos de muestreo realizados en los cultivos de maíz y sorgo determinados en los ensayos en 2017-2018 y 2018-2019 en Kansas, Estados Unidos.	18
Tabla 3. Media y desvíos de rendimiento, biomasa e índice de cosecha para dos híbridos de maíz y dos híbridos de sorgo evaluados durante experimentos en 2017-2018 y 2018-2019 en Kansas, Estados Unidos.	19
Figura 1. Contenido carbohidratos solubles en tallo durante diferentes estadios fenológicos en dos híbridos de maíz. Barras verticales representan las medias estimadas a partir de modelos mixtos combinando dos años de experimentos.	25
Figura 2. Índice de área foliar en híbridos maíz durante diversos estadios fenológicos. Las barras verticales expresan los promedios estimados a partir de modelos mixtos abarcando los años 2017 y 2018.	26
Figura 3. Número de hojas verdes presentes en diferentes estadios luego de floración para dos híbridos de maíz. Las barras verticales representan las medias estimadas mediante análisis estadístico utilizado de modelos mixtos analizados datos de los años 2017 y 2018.	27

Figura 4. Cantidad de carbohidratos solubles en tallo durante diferentes estadios fenológicos en los híbridos de Sorgo. Las figuras rojas y azules muestran las medias ponderadas mediante modelos mixtos con datos comprendido en el periodo 2018 y 2019.	28
Figura 5. Índice de área foliar en híbridos de sorgo durante diferentes momentos de muestreo expresados en escala fenológica, las barras verticales representan las medias estimadas en base a modelos mixtos combinando los datos de ambos años.	29
Figura 6. Número de hojas verdes presentes en diferentes estadios para dos híbridos de sorgo. Las barras verticales representan las medias estimadas mediante análisis estadístico utilizado de modelos mixtos analizados datos de los años 2018 y 2019.	30
Figura 7. Análisis de componentes principales en maíz, agrupando las variables de contenido de carbohidratos, biomasa de los tallos, índice de área foliar y senescencia, las diferentes variables se encuentran establecidos en los estadios fenológicos.	33
Figura 8. Análisis de componentes principales en el cultivo de sorgo, se trabajó sobre las variables principales de contenido de carbohidratos, biomasa de tallo, índice de área foliar y senescencia, todas las variables fueron agrupadas de acuerdo a su estadio fenológico.	34
Tabla S1. Tabla confeccionada con los datos de las medias estimadas y las letras comparativas carbohidratos maíz.	42
Tabla S2. Tabla confeccionada con los datos de las medias estimadas y las letras comparativas IAF maíz.	43

Tabla S3. Tabla confeccionada con los datos de las medias estimadas y las letras comparativas del número de hojas verdes en maíz.	43
Tabla S4. Tabla confeccionada con los datos de las medias estimadas y letras comparativas carbohidratos sorgo.	43
Tabla S5. Tabla confeccionada con los datos de las medias estimadas y las letras comparativas IAF Sorgo.	44
Tabla S6. Tabla confeccionada con los datos de las medias estimadas y las letras comparativas del número de hojas verdes en sorgo.	44
Imagen S1. Bolsas de muestras.....	40
Imagen S2. Tubos falcon con muestras por entrar a baño maría	40
Imagen S3. Preparado de solución de sacarosa	40
Imagen S4. Tubos de ensayo en grilla con reacción colorimétrica.....	40
Imagen S5. Tubos de ensayo con reacción colorimétrica.	40
Imagen S6. Medición de dos muestras en el espectrofotómetro.....	40
Imagen S7. Máquina centrifugadora.	41

Bloques de códigos S1. Instalación de paquetes y análisis del contenido de carbohidratos en maíz.	45
Bloques de códigos S2. Análisis del índice de área foliar en maíz.....	48
Bloques de códigos S3. Análisis del contenido de carbohidratos en sorgo.	49
Bloques de códigos S4. Análisis del índice de área foliar en sorgo.	51
Bloques de códigos S5. Análisis del número de hojas verdes en sorgo.....	53
Bloques de códigos S6. Análisis del número de hojas verdes en maíz.	54
Bloques de códigos S7. Análisis componentes principales en maíz.	55
Bloques de códigos S8. Análisis componentes principales en sorgo.....	57

AGRADECIMIENTOS

RESUMEN

En cereales de importancia agronómica, los carbohidratos solubles en tallo cumplen un rol fundamental como fuente de reservas de carbono y energía durante el periodo de post-floración. Adicionalmente, la senescencia es un fenómeno natural caracterizado por la degradación de tejidos y pérdida de la capacidad fotosintética que ocurre paralelamente a la removilización de carbohidratos. El presente estudio se centró en la investigación de la relación entre ambos procesos – la acumulación de carbohidratos y las dinámicas de senescencia – en híbridos contrastantes en años de liberación para los cultivos de maíz (*Zea mays* L.) y sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). A partir de estudios de campo, el contenido de carbohidratos en tallos se midió mediante métodos químicos, y la senescencia mediante el conteo de hojas verdes y el índice de área foliar a lo largo del ciclo. Los datos fueron analizados usando modelos mixtos y análisis de componentes principales (PCA). Los resultados indicaron que, para el caso del maíz, el contenido de carbohidratos fue mayor para el híbrido moderno, y en el caso del sorgo no se obtuvo una diferencia significativa en los híbridos evaluados. Además, para el cultivo de maíz los contenidos de carbohidratos no mantuvieron una relación directa con la senescencia. Por otra parte, para el caso del sorgo se evidenció una moderada correlación entre el contenido de carbohidratos y la intensidad de senescencia. Este estudio demostró que no existe una relación universal entre el contenido de carbohidratos y la senescencia general para ambos cereales. Sin embargo, la inclusión de variables ambientales al análisis es sugerida como potencial objeto de estudio futuro. Estos resultados proporcionan información relevante para comprender los mecanismos subyacentes a la senescencia en especies C4, contribuyendo a informar rasgos fisiológicos de interés para el mejoramiento genético futuro.

1. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) y el sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), son gramíneas tropicales (de la familia Poaceae) adaptadas a una gran diversidad de ambientes. En la producción mundial de cereales, maíz y sorgo ocupan el primer y quinto lugar respectivamente con mayor área cultivada y demanda global (OECD and Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2021). En Estados Unidos, el maíz registró una superficie total de 32 millones de hectáreas sembradas en el año 2019 con un rinde promedio de 10.500 kg ha⁻¹, mientras que el sorgo alcanzó un total de 19 millones de hectáreas con un rinde promedio de 4.500 kg ha⁻¹ (FAO, 2021). Entre sus diversos destinos, gran parte de su producción está destinada hacia la alimentación humana, alimentación ganadera como grano y forraje, y la producción de etanol por su alto contenido en carbohidratos.

A lo largo de los años, el aumento de rendimiento y productividad en grano fue el producto de avances tanto en el aspecto genético como en el manejo agronómico de ambos cultivos. Mediante selección directa por rendimiento, décadas de mejoramiento genético propiciaron la selección de genotipos superiores en determinados rasgos eco-fisiológicos. Uno de los rasgos más destacables es la mayor capacidad en híbridos modernos de poder capturar y utilizar de manera más eficiente la radiación solar y los nutrientes a lo largo del ciclo del cultivo, así como también la mejora en la eficiencia reproductiva y su adaptación a condiciones de estrés. Con respecto a los componentes de rendimiento, numerosos estudios en ambos cultivos coinciden en que el aumento en el número de granos por unidad de superficie fue el principal factor, mientras que el aumento del peso de grano contribuyó en una menor proporción (Demarco et al., 2023; Duvick, 2005; Gizzi and Gambin, 2016; Mason et al., 2008).

En los genotipos modernos, avances en la arquitectura de planta y en la duración del periodo fotosintético (a través del fenotipo denominado como “staygreen”) permitieron una mayor eficiencia en la intercepción de energía lumínica por parte de las hojas. La mayor captura de radiación solar ha sido relacionada con mejora en la posterior conversión de asimilados, además de una mayor tolerancia a sequías y resistencia a enfermedades (Gentinetta et al., 1986; Trachsel et al., 2016). Sin embargo, la fisiología comparada de cambios en staygreen entre maíz y sorgo para las últimas décadas de mejoramiento genético aún no ha sido documentada. Investigaciones de este tipo, enfocadas en los cambios genotípicos de las dinámicas de acumulación y utilización de carbohidratos, son de fundamental importancia para informar sobre características fisiológicas de potencial importancia para el mejoramiento futuro de ambos cultivos.

Aumentos en la disponibilidad de asimilados en cereales han sido relacionados con cambios en las dinámicas de acumulación y reservas de carbohidratos en los tejidos. Durante el período vegetativo, los tallos de maíz y sorgo son los principales destinos de la producción de carbohidratos por parte de las hojas, actuando como importantes reservas de carbono en forma de azúcares solubles (Kumar et al., 2019; Schnyder, 1993). Luego, durante el periodo reproductivo, cambios en la concentración de carbohidratos en tallo pueden ocurrir reflejando una translocación hacia los granos en crecimiento como principales destinos de asimilados. Sin embargo, la contribución final de las reservas de azúcares en el rendimiento en cereales no ha sido completamente determinada, teniendo en cuenta la relación negativa que existe entre su contenido a floración y el número de granos (Dreccer et al., 2013; Sadras et al., 2019).

Estudios previos han reportado que los azúcares solubles en tallo juegan un papel fundamental en la regulación de la senescencia (Wingler et al., 2009). Sadras et al. (2019)

propone la cuantificación de la concentración de carbohidratos en tallo como un potencial indicador de senescencia foliar durante el llenado de granos en avena (*Avena sativa* L.). En tal sentido, este estudio pretende investigar la hipótesis de que la acumulación de carbohidratos solubles en tallo puede ser utilizado como indicador de senescencia durante el periodo reproductivo en maíz y sorgo. Estudios en especies de importancia agronómica, como en este trabajo, son relevantes para explorar nuevas líneas de mejoramiento genético mediante el desarrollo de valiosas herramientas de fenotipado.

2. OBJETIVOS

- 1- Realizar una comparación de los perfiles de senescencia y contenidos de carbohidratos no estructurales en tallo entre híbridos contrastantes de maíz y sorgo con años de liberación en 1990' y 2010'.
- 2- Analizar la relación fisiológica entre el contenido de carbohidratos a floración y la senescencia foliar de ambos cultivos, con el fin de dilucidar su posible utilización como indicador en programas de mejoramiento genético.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 *Estudio de campo*

Experimentos de maíz y sorgo a campo se llevaron a cabo en estaciones experimentales de Kansas State University localizados en Riley County, estado de Kansas (KS), Estados Unidos. Las condiciones climáticas históricas para la zona en las temporadas de crecimiento (abril a septiembre) son de 325.8 mm de precipitación y temperatura media de 22.4 °C. Los ensayos utilizados en este estudio forman parte de investigaciones previas y reportados en Fernández et al. (Fernandez et al., 2022, 2021) y Demarco et al. (2023). Brevemente, los experimentos de maíz fueron llevados a cabo en la localidad de Ashland Bottoms (KS) durante 2017 y 2018, y los experimentos de sorgo en la localidad de Manhattan (KS) durante 2018 y 2019. Se realizaron análisis de suelos previos a las siembras para poder obtener una correcta observación de las condiciones del suelo, tales resultados se encuentran expuestos en la Tabla 1.

El manejo agronómico de ambos cultivos fue basado en recomendaciones para la zona y ajustada de acuerdo a la provisión de agua. Para maíz, la densidad de siembra utilizada fue de 76,000 plantas/ha en irrigado y 61,000 plantas/ha en secano. El cultivo predecesor para el caso de maíz del año 2017 fue un cultivo de soja [*Glycine max* (L.) Merr.] y maíz en el del año 2018. Los experimentos fueron fertilizados con 200 kg N ha a siembra y V6 para lograr condiciones nutricionales optimas sin limitación de N. Información más detallada de los sitios de maíz fue descripta en Fernández et al. (2021). Para sorgo, la densidad de siembra utilizada fue de 173,000 plantas/ha en irrigado y secano. El cultivo antecesor de sorgo fue maíz para el año 2018 y trigo [*Triticum aestivum*; L.] para el 2019. Los experimentos fueron fertilizados con 140 kg N ha en E3 para lograr un abastecimiento idóneo de N. Información más detallada de los sitios de sorgo fue descripta en Demarco et al. (2023). Todos los experimentos fueron controlados de manera

eficiente para lograr un crecimiento y desarrollo de los cultivos libre de enfermedades, plagas y malezas.

Tabla 1. Resumen general de los ensayos de campo en el que se especifican el manejo agronómico, genotipos utilizados e indicadores de suelo para los cultivos de maíz y sorgo.

Cultivo	Sitio	Año	Sistema de riego	Genotipo	Fecha de siembra	Densidad de siembra	pH	Materia orgánica
						Pl./ha		%
Maíz	Ashland Bottoms, Kansas	2017	No	MH1991-MH2014	5 de mayo del 2017	61.000	6,1	1,6
Maíz	Ashland Bottoms, Kansas	2017	Si	MH1991-MH2014	5 de mayo del 2017	76.000	6,1	1,3
Maíz	Ashland Bottoms, Kansas	2018	Si	MH1991-MH2014	24 de abril del 2018	76.000	6,3	1,5
Sorgo	Riley County, Kansas	2018	Si	SH1997-SH2010	7 de julio del 2018	173.000	6,2	2
Sorgo	Riley County, Kansas	2019	Si	SH1997-SH2010	8 de julio del 2019	173.000	6,4	2,1

3.2 *Diseño Experimental – Materiales Biológicos*

El diseño experimental empleado para todos los ensayos consistió en un diseño de bloques completamente aleatorizados con tres repeticiones. Los híbridos comerciales de maíz utilizados en el estudio fueron: el MH1991 (año de liberación comercial 1991) y MH2014 (año de liberación comercial 2014). Para el estudio en sorgo, fueron utilizados dos híbridos comerciales correspondientes a la región de estudio: el SH1997 (año de liberación comercial 1997) y el SH2010 (año de liberación comercial 2010), de manera de comparar genotipos representando dos décadas de mejoramiento para ambos cultivos (1990's vs 2010's).

3.3 *Mediciones y momentos de muestreo*

Múltiples muestreos destructivos fueron realizados sucesivamente durante el estadio vegetativo y reproductivo en ambos cultivos. Las mediciones que se colectaron corresponden a:

- Biomasa: se realizó a través de muestreos de planta entera, cortando al ras del suelo las plantas presentes en un metro lineal de surco en los dos líneas centrales. Tejidos fueron fraccionados en tallo, hoja, y estructuras reproductivas (espiga y grano, en maíz; panoja y granos, en sorgo). Luego se secaron en estufa a 65°C hasta peso constante. Cada sección de la planta se pesó por separado para registro de la partición de asimilados.
- Determinación de senescencia: a través del conteo de número de hojas verdes por planta en cinco plantas consecutivas del surco, y durante el período de llenado de granos.

- Índice de área foliar: se realizó mediante la utilización de un equipo LAI-2200C (LICOR) analizador de canopy de plantas. La determinación consistió en cuatro mediciones sucesivas abarcando surco y entre-surco de los dos líneas centrales para cada parcela.
- Concentración de carbohidratos solubles en agua en tallo: por medio de extracciones sucesivas y determinación colorimétrica con el método de Anthrone (Galicía et al., 2009; Yemm and Willis, 1954).
- Rendimiento en grano: a partir de los muestreos de biomasa a madurez, se recolectaron las espigas de las dos líneas centrales de cada parcela. El peso seco de grano se calculó contando 1000 granos secados a estufa con circulación forzada de aire (65° C), hasta peso constante. El número de granos m⁻² se calculó mediante el cociente entre rendimiento de grano y el peso del grano (base seca).

Los estadios en los cuales fueron realizadas las tomas de muestras de los diferentes cultivos se notan detallados en la tabla 2. Fueron empleadas las escalas fenológicas de Ritchie et al. (1997) para maíz y Vanderlip and Reeves (1972) para sorgo.

Tabla 2. Mediciones y momentos de muestreo realizados en los cultivos de maíz y sorgo determinados en los ensayos en 2017-2018 y 2018-2019 en Kansas, Estados Unidos.

Cultivo	Año	Mediciones	Momentos de muestreo
Maíz	2017	Senescencia	R3 a R6
		Carbohidratos	R1-R3-R6
		Índice de área foliar	R1-R3-R6
		Biomasa	R6
	2018	Senescencia	R2 a R6
		Carbohidratos	V7-V11-R1-R3-R5-R6
		Índice de área foliar	V9-V11-V16-R1-R2-R3-R4-R5
		Biomasa	R6
Sorgo	2018	Senescencia	FL y HV (E5.5 Y E9)
		Carbohidratos y Biomasa	FL a HV (E5.5 A E9)
		Índice de área foliar	FL y HV (E5.5 Y E9)
	2019	Senescencia	E2-E3-E4-E5-E6-E9
		Carbohidratos y Biomasa	E2-E3-E4-E5-E6-E9
		Índice de área foliar	E2-E3-E4-E5-E6-E9

Para referencia de los niveles de productividad en grano y biomasa alcanzados en los ensayos, los valores de rendimiento, biomasa e índice de cosecha a madurez fisiológica se reportan en la Tabla 3.

Tabla 3. Media y desvíos de rendimiento, biomasa e índice de cosecha para dos híbridos de maíz y dos híbridos de sorgo evaluados durante experimentos en 2017-2018 y 2018-2019 en Kansas, Estados Unidos.

Cultivo	Año	Rendimiento en grano		Biomasa		Índice de cosecha	
		Media	Desvío estándar	Media	Desvío estándar	Media	Desvío estándar
		Kg/ha	Kg/ha	Kg/ha	Kg/ha	-	-
Maíz	2017	14237	2278	2131	620	0,50	0,11
Maíz	2018	11516	2381	2233	514	0,49	0,06
Sorgo	2018	7114	1902	1538	584	0,49	0,19
Sorgo	2019	7859	853	2344	368	0,34	0,04

3.4 *Análisis de laboratorio*

Carbohidratos solubles en tallo fueron analizados mediante análisis colorimétricos utilizando el método reactivo de Anthrone (Galicia et al., 2009, pp. 22–25). El análisis consiste en la reacción del anthrone (9,10-dihydro-9-oxoantraceno) junto a una combinación furfural de carbohidratos (que se genera de la respuesta de estos últimos al combinarlos con ácido sulfúrico). Esto dio como resultado una reacción colorimétrica posteriormente medida en un espectrómetro a 630 nm.

Para el análisis químico, se utilizaron: muestras secas y molidas de los tallos de ambos cultivos, agua ionizada, el reactivo anthrone, ácido sulfúrico, y solución de sacarosa (100 µg/ml). La secuencia de procedimientos se enuncia en detalle a continuación.

3.4.1 *Extracción de muestras*

Para la extracción de los carbohidratos se pesaron 20 mg de muestras secas (Imagen S1) en balanzas de alta precisión. Luego, éstas fueron colocadas en tubos Falcon de 15 ml. a las cuales

se le agregó 4 ml de agua ionizada, posteriormente tapadas para que mezclarlas en un agitador mecánico. Las mismas se llevaron a baño maría a 70 °C por 45 minutos mezclándolas en intervalos de 15 minutos (Imagen S2).

Una vez terminado el baño en agua, se sumergieron las muestras en agua helada para interrumpir la extracción de azúcares. Las muestras fueron colocadas en una máquina centrifugadora (Imagen S7) a una velocidad de 3000 rpm por 10 minutos para separar el material sólido de del líquido. El líquido sobrenadante fue utilizado para realizar una dilución 1:20, lo que representó 250 µg de la muestra en 4.75 ml de agua ionizada.

3.4.2 Preparación de reactivo anthrone

Para la solución del reactivo de anthrone, un total de 50 mg del reactivo de anthrone pesados en balanzas de precisión se lo disolvió en 50 ml de ácido sulfúrico bajo campana de gases. Fue necesario preparar la solución diariamente y tenerla lista 1 hora antes de su uso, con la precaución de que se encuentre protegida de la luz y refrigerada.

3.4.3 Preparación de curva estándar

Para la curva standard se preparó una solución de sacarosa (Imagen S3) a partir de agua ionizada (250 ml) y sacarosa (25mg), mezclando correctamente y asegurando una completa disolución. Partiendo de esta solución de sacarosa, la curva estándar fue preparada realizando disoluciones en agua ionizada en distintas concentraciones para capturar todo el espectro de color de las muestras a analizar. Para ello, las diluciones en el primer punto correspondieron a un total de 10 ml de agua ionizada, en el segundo punto 40 ml de la solución de sacarosa y 60 ml de

agua ionizada, en el tercer punto de la curva estuvo compuesto de 60 ml de solución de sacarosa y 40 ml de agua, y el último punto estuvo integrado por 90 ml de la solución de sacarosa y 10 ml de agua ionizada. La solución de sacarosa, a diferencia del reactivo de anthrone, puede utilizarse en el rango de 2 días.

3.4.4 Reacción colorimétrica y medición

Al momento de realizar la reacción colorimétrica (Imagen S4 y S5) se colocaron 2.5 ml de las muestras ya diluidas y de diluciones de la curva estándar, en tubos de ensayo. Para cada muestra se analizaron dos repeticiones, un original y un duplicado y para la curva se realizaron 3 repeticiones a cada punto de la curva. Consecuentemente se agregó 3.5 ml del reactivo anthrone y se mantuvo el tubo de la solución en contacto con hielo para lograr una correcta reacción. Seguidamente, se cerraron los tubos y se agitaron con ayuda de un agitador mecánico. Se colocaron la totalidad de las muestras analizadas junto con los puntos de la curva dentro de un baño de agua en ebullición por 7,5 minutos. Al momento de retirar, se dejaron las muestras reposar a temperatura ambiente para luego realizar la medición en el espectrofotómetro (Thermo Scientific™ Espectrofotómetro visible, modelo GENESYS™ 30) a 630 nm (Imagen S6).

De esta medición colorimétrica se obtuvieron la concentración de carbohidratos solubles de las muestras de tallos de los cultivos analizados siguiendo el cálculo (Galicia, 2008, p. 24), que luego multiplicados por la biomasa de este mismo órgano se obtuvo el contenido total de carbohidratos.

3.5 *Análisis estadístico*

La compilación de las planillas correspondientes para el registro de datos y el posterior análisis estadístico fue relacionada en el lenguaje de programación R (R Core Team, 2021) por medio del software RStudio (RStudio Team, 2020). El análisis estadístico de los datos fue realizado considerando todos los experimentos separados por cultivos. El enfoque fue realizado en la comparación de los híbridos históricos como tratamiento objetivo. Por lo tanto, la variable híbrido fue clasificada como variable categórica previo a la utilización de modelos.

Se usaron modelos mixtos con genotipo y momento de muestreo como factores fijos, y con años (o experimentos) y las repeticiones (o bloques) como factores aleatorios. Para establecer los modelos se aplicó la función lmer del paquete “lme4” en R, conocida como Linear Mixed-Effects Models (Bates et al., 2015). Para reproducibilidad del análisis, el código desarrollado para el modelo esta reportado en Material Suplementario 2. Brevemente, se seleccionaron los datos que dentro del modelo representan las variables fijas y aleatorias anteriormente descriptas, y las correspondientes interacciones.

Luego, se realizó la estimación de los Estimadores Insesgados Lineales Óptimos (BLUE) de los datos. Para ello se utilizó el paquete “emmeans” en R (Lenth et al., 2019). Brevemente, para cada híbrido de maíz y sorgo, y en cada momento de muestreo representado por su estadio fenológico, se obtuvo la media y el desvío estándar junto con otros grados de libertad y los intervalos de confianza. Testeos de comparación de medias fueron realizado con el método de Tukey al 0.05 de significancia. Para ello, se utilizó la función “cld” de la librería “multcomp” (Hothorn et al., 2008). Tablas se elaboraron aplicando la función “broom::tidy” dentro del código para facilitar las opciones al momento de realizar los gráficos (Material Suplementario, Tabla S1) (Robinson, 2014).

La elaboración de gráficos de barras fue realizada a través de la librería “*ggplot2*” (Wickham, 2016). Esta librería fue seleccionada porque permite un amplio abanico de modificaciones por parte del usuario, como ser los cambios de colores, ubicación, variables, o nombres.

Por último, el análisis de componentes principales (PCA) fue realizado mediante la librería “*factoextra*” (Kassambara and Mundt, 2020). En primer lugar, se organizó la información de manera de expresar los datos de forma normalizada, mediante la función “*scale*”, estableciendo las diferentes variables con una misma unidad. En segundo término, se elaboró el PCA mediante la función “*printcomp*”. El gráfico Biplot fue elaborado en el código mediante la función “*fviz_pca_var*”, generando para ambos cultivos los gráficos para su posterior análisis.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Maíz: Datos comparativos entre híbridos históricos

4.1.1 Contenido de carbohidratos

Los valores de contenido de carbohidratos solubles en tallo a lo largo del ciclo del cultivo (expuestos en la Figura 1) se mantuvieron similares para ambos híbridos de maíz. Esto se pudo observar en el análisis al momento de no presentar variabilidad en las letras de agrupación (Tabla S4, Material Suplementario 1), a pesar de que la media fue mayor para el híbrido MH2010. En el gráfico se pueden notar las tendencias relacionadas a un aumento parcial de la concentración de carbohidratos entre híbridos, reflejado en un aumento en los contenidos del híbrido más antiguo (MH1991) en los primeros estadios de llenado de grano (R2) y llegando al estadio de grano pastoso (R4) se presenta el mayor pico de carbohidratos en el híbrido moderno (MH2010) (Figura 1). Sin embargo, es resaltable que llegando al estadio de madurez fisiológica ambos híbridos comienzan a descender sus contenidos de carbohidratos y las medias se mantienen similares.

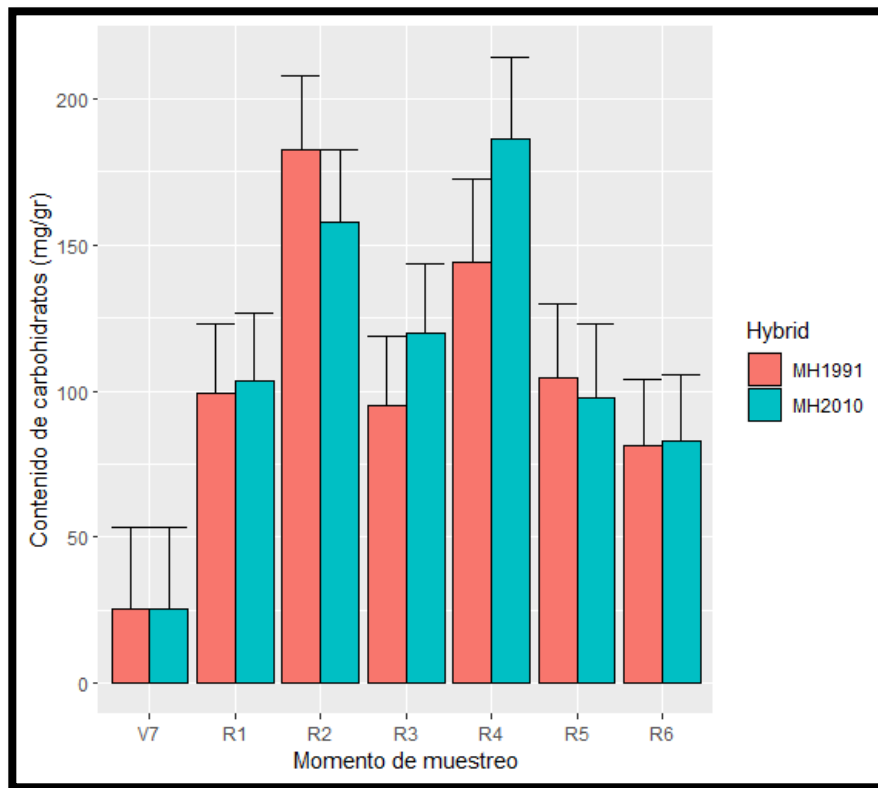


Figura 1. Contenido carbohidratos solubles en tallo durante diferentes estadios fenológicos en dos híbridos de maíz. Barras verticales representan las medias estimadas a partir de modelos mixtos combinando dos años de experimentos.

4.1.2 Índice de área foliar y senescencia

Mediante lo expresado en la Figura 2, se pueden visualizar valores superiores de índice foliar en los primeros estadios de la planta en el genotipo moderno, viéndose equiparado en el estadio R3 por el híbrido de mayor antigüedad. Al mismo tiempo, fueron mayores los resultados del híbrido MH1991 en estadios R4 y R5. Sin embargo, hay que aclarar que, desde el punto de vista estadístico, las diferencias no fueron significativas a los niveles de significancia de 0.05 utilizados (Tabla S2, Material Suplementario 1).

En los estadios reproductivos, se puede observar un mayor índice de área foliar para el caso del híbrido más moderno. Aunque, al momento de compararlo con el número de hojas verdes por planta expresado en la Figura 3 se pudo observar que en los estadios temprano de floración como ser R2, R3 Y R4 el híbrido MH2010 se vio superado por la media de hojas verdes del híbrido más antiguo. Solamente en los estadios finales de floración el híbrido de maíz con año de liberación 2010 logró demostrar una diferencia significativa a nivel estadístico logrando por media estimada en R6 un total de 4.05 a diferencia del híbrido MH1991 el cual presentó 2.84 (Tabla S3, Material Suplementario 1).

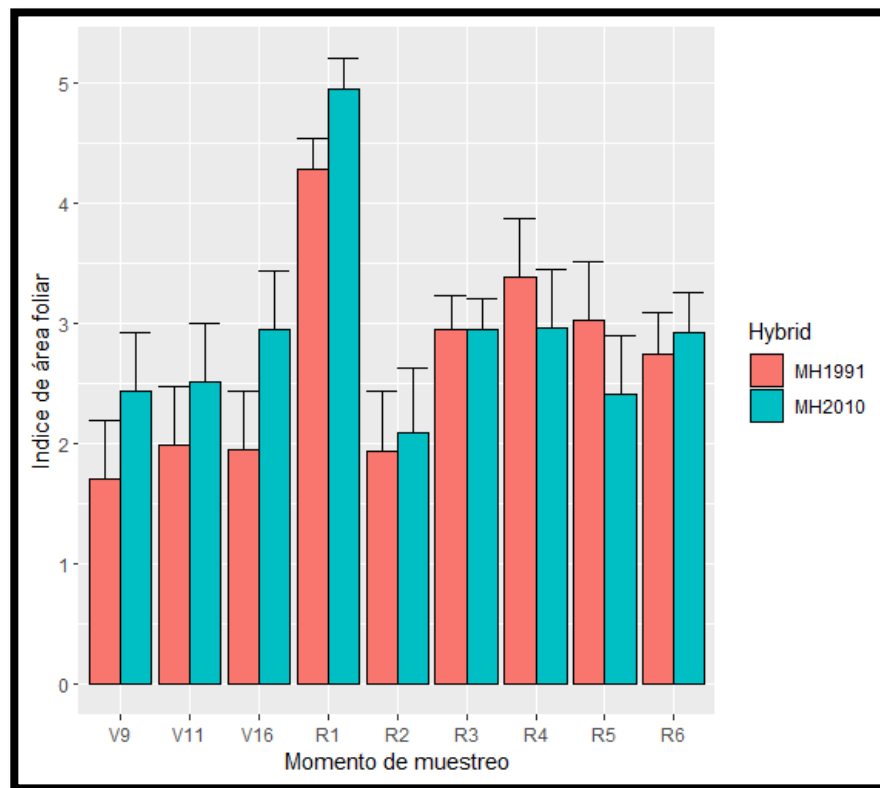


Figura 2. Índice de área foliar en híbridos maíz durante diversos estadios fenológicos. Las barras verticales expresan los promedios estimados a partir de modelos mixtos abarcando los años 2017 y 2018.

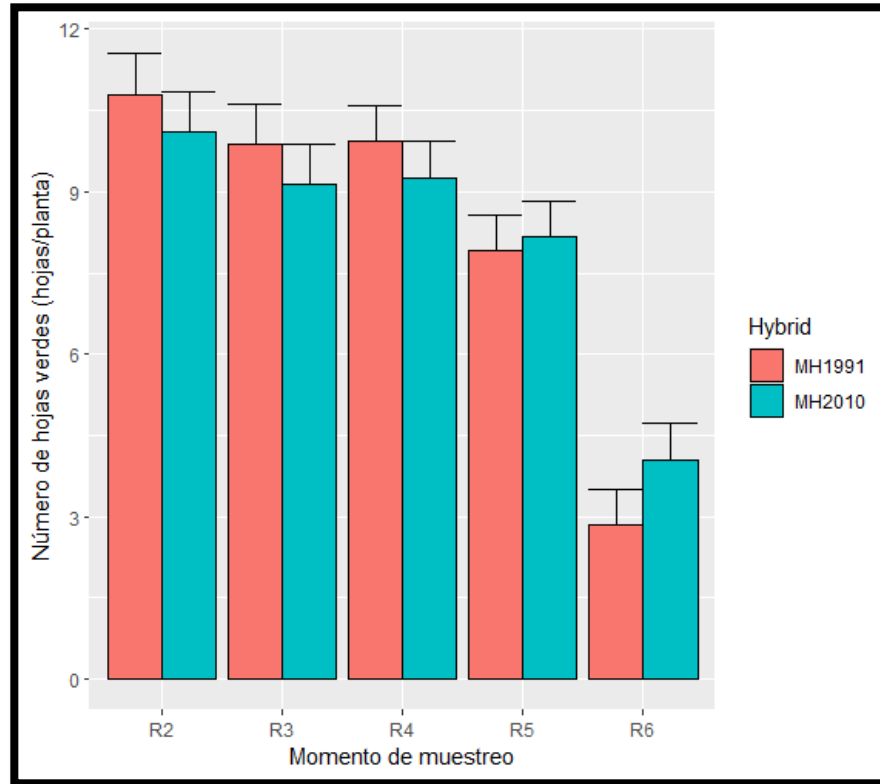


Figura 3. Número de hojas verdes presentes en diferentes estadios luego de floración para dos híbridos de maíz. Las barras verticales representan las medias estimadas mediante análisis estadístico utilizado de modelos mixtos analizados datos de los años 2017 y 2018.

4.2 Sorgo: Datos comparativos entre híbridos históricos

4.2.1 Contenido de carbohidratos

A diferencia de lo observado en los datos de Maíz, los contenidos de carbohidratos en los análisis realizados sobre las muestras de sorgo (Figura 4) presentaron un mayor contenido en el híbrido SH1997 el cual, en este estudio, es el más longevo con respecto a su año de liberación. Las tendencias más marcadas en el gráfico se dan en el máximo registrado de carbohidratos, el cual se visualiza cercano a la madurez, específicamente en E8. Este llega a registrar un contenido estimado de 159,4 mg.g¹ para el híbrido de 1997 y un total estimado de 146,8 mg.g¹ para el

híbrido SH2010. Se observan valores por encima de 100 mg.g¹ en el final de ciclo del sorgo (E9).

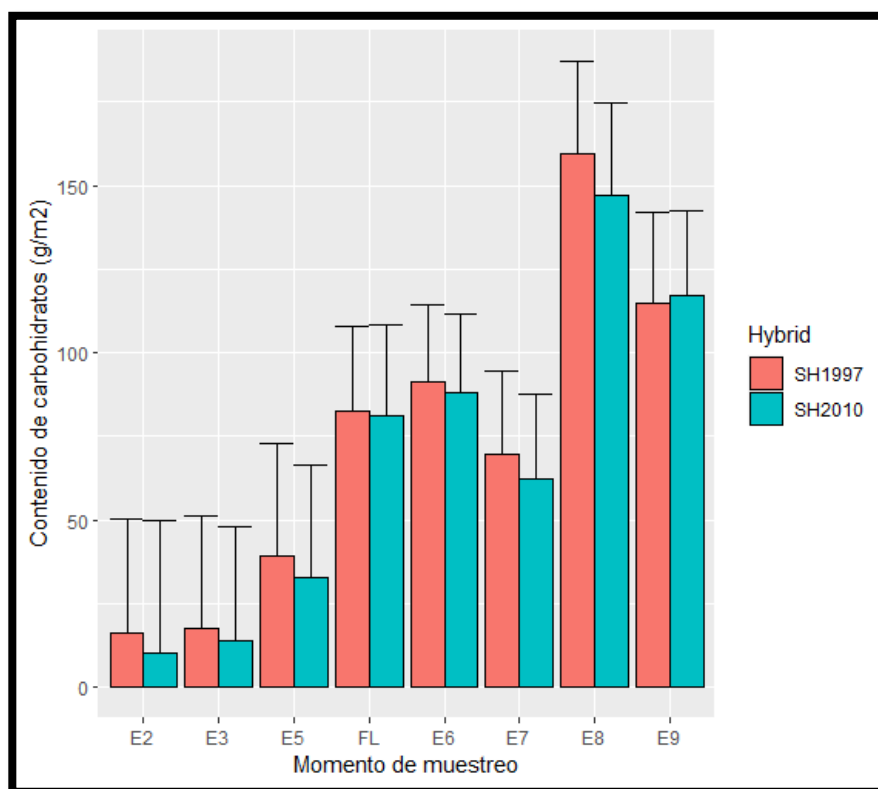


Figura 4. Cantidad de carbohidratos solubles en tallo durante diferentes estadios fenológicos en los híbridos de Sorgo. Las figuras rojas y azules muestran las medias ponderadas mediante modelos mixtos con datos comprendido en el periodo 2018 y 2019.

4.2.2 Índice de área foliar y senescencia

En la Figura 5, se pueden observar los resultados estimados de las medias del índice de área foliar para las variables híbridos analizadas en sorgo. Se puede apreciar que los mayores picos se encuentran en la etapa de floración, siendo superior el híbrido SH1997, sin embargo, se vio sobrepasado por el híbrido más moderno en estadios más tempranos de la planta (E5). Es

resaltable la constancia que mantiene el índice de área foliar de las plantas evaluadas de sorgo luego de su floración e incluso cercano a maduración, llegando a índices cercanos a 4 en estadios E9 (Figura 5).

Por otro lado, al evaluar los resultados obtenidos en el análisis de numero de hojas verdes por planta (Figura 6) podemos observar como el hibrido SH2010 se mantuvo levemente superior en la comparativa contra el hibrido más antiguo, presentando una media en E9 de una media estimada de 10 hojas. Sin embargo, no se observaron diferencias estadísticas resaltables al menos con los niveles de significancia utilizados en este análisis (Tabla S6, Material Suplementario 1).

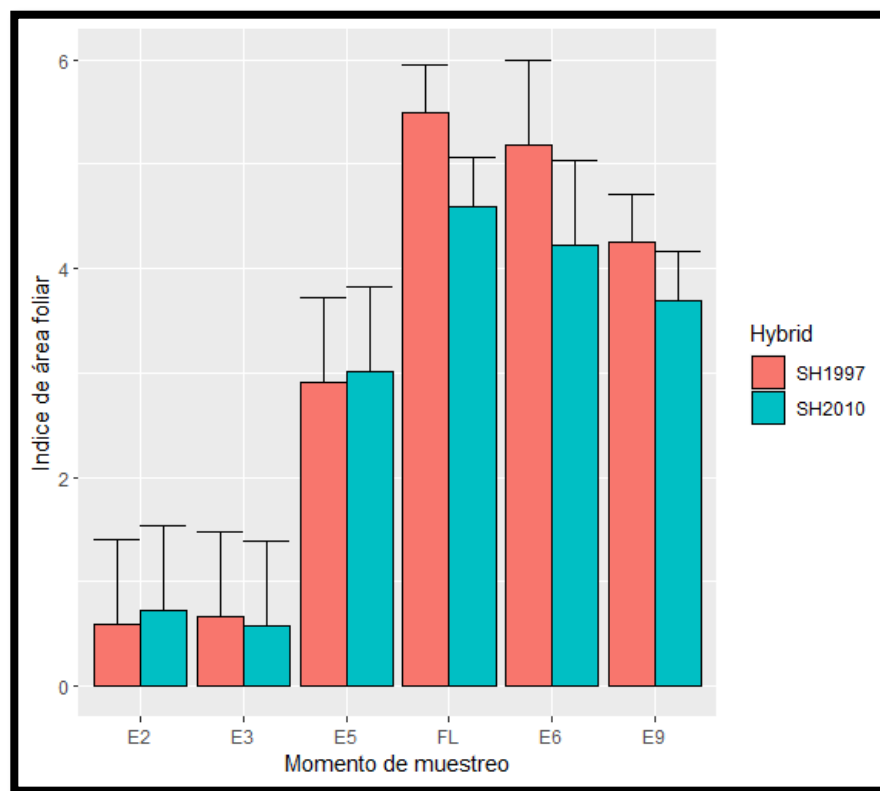


Figura 5. Índice de área foliar en híbridos de sorgo durante diferentes momentos de muestreo expresados en escala fenológica, las barras verticales representan las medias estimadas en base a modelos mixtos combinando los datos de ambos años.

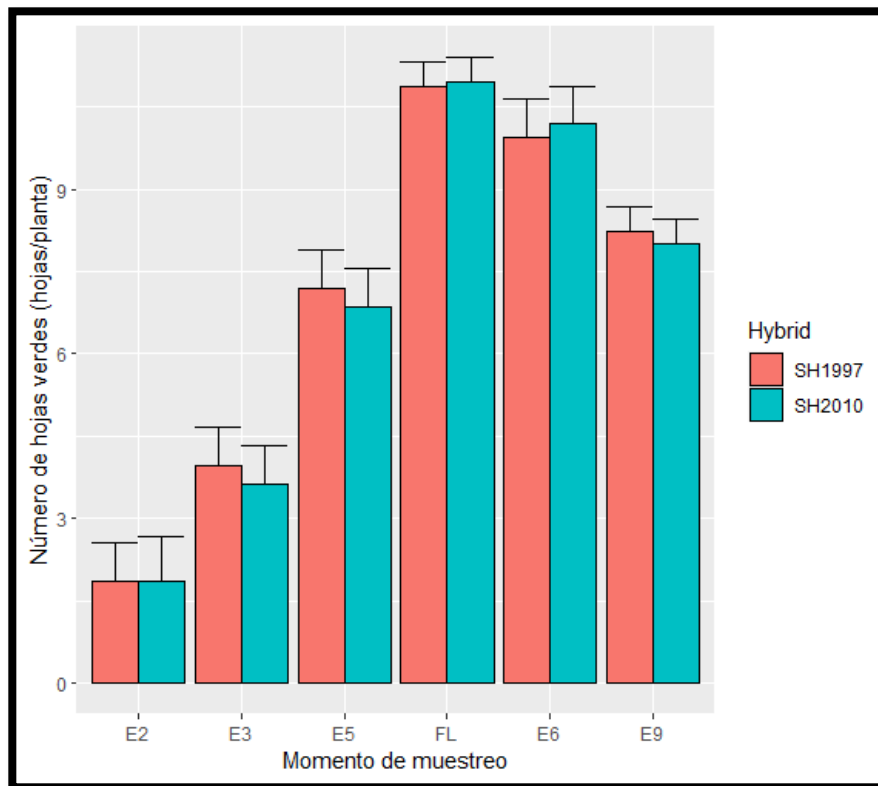


Figura 6. Número de hojas verdes presentes en diferentes estadios para dos híbridos de sorgo. Las barras verticales representan las medias estimadas mediante análisis estadístico utilizado de modelos mixtos analizados datos de los años 2018 y 2019.

4.3 Comparativa entre los cultivos: maíz y sorgo

4.3.1 Contenido de carbohidratos

La fisiología comparada de los cultivos de maíz y sorgo fue realizada para cada rasgo fenotípico evaluado para determinar los patrones homogéneos/heterogéneos entre especies. En cuanto al contenido de carbohidratos solubles en tallo, se encontraron diferencias significativas entre ambos cereales C4. Es marcada la tendencia en los momentos de floración, presentando en maíz 101 mg.g¹ (Figura 1) y para el caso del sorgo al momento de su floración un contenido de 81 mg.g¹ (Figura 4). De la misma forma, se debe resaltar que el valor más alto para el maíz se

encuentra en R2 con 182 mg.g¹ y en el caso del sorgo se puede observar en el estadio de E8, en el cual se presentaron valores de 159 mg.g¹. Sin embargo, al momento de madurez (R6 y E9) de los cultivos, se alcanzaron promedios de 81 mg.g¹ para maíz, los cuales fueron superados por los obtenidos en los análisis de sorgo, con valores de 116 mg.g¹ (Figuras 1 y 4, respectivamente).

4.3.2 Índice de área foliar y senescencia

En lo que concierne al índice del área foliar, se observó un aumento gradual durante la etapa vegetativa en ambos cultivos. Llegado al momento de floración, los valores del maíz mostraron 4,6 de IAF (Figura 2) y en sorgo un valor de media estimada correspondiente a 5 (Figura 5), logrando en ambos casos su índice de área foliar crítico. Los resultados más destacables se presentaron en la madurez del cultivo, en la cual el sorgo se mantuvo con un índice de área foliar alto de 3,96 y por otra parte el maíz disminuyó su media arrojando valores de 2,82 de IAF.

De la misma forma, se pudo visualizar que el número de hojas verdes para ambos cultivos en momentos cercanos a floración se mantuvieron superiores a 9 hojas (Figuras 3 y 6, respectivamente). Sin embargo, en el análisis de sorgo se obtuvo una media estimada de 8,1 hojas verdes en el estadio fenológico E9 y por otro lado, en maíz los valores al momento de madurez (R6) fueron de 3,4 hojas verdes, aportando valores inferiores al fin del ciclo.

4.3.3 Análisis de componentes principales (PCA)

Un análisis de PCA fue utilizado para explorar la relación entre variables y localizar los rasgos fenotípicos relacionados con las dinámicas de senescencia en los cultivos estudiados. Para

el cultivo de maíz, los dos componentes principales explicaron un 47,6% de la variabilidad total en la data. Específicamente, el componente 1 explico un 28,4% y el componente 2 un 19,2% (Figura 7).

En lo que refiere al componente principal 1, el cual representa el eje de las X, se observa una relación con las variables integradas por el índice de área foliar y la biomasa (Figura 7). En particular, es resaltable la proximidad entre variables de IAF en los estadíos de R1-R2 y el número de hojas verdes en los estadíos R3-R4.

Por otro lado, se percibe que las variables de contenido de carbohidratos se encuentran más influenciadas sobre la dimensión 2, y al mismo tiempo se visualiza que la relación de las variables de índice de área foliar y biomasa parecen estar relativamente poco relacionadas (Figura 7). Entre las variables relacionadas a las dinámicas de senescencia, el número de hojas verdes en estadio R5-R6 se distinguió como la de mayor correlación positiva con la dimensión 2 y, por lo tanto, con la cantidad de carbohidratos en tallo. Estos resultados evidencian la influencia de mecanismos adicionales de regulación del proceso de senescencia (aparte de la acumulación de reservas de carbohidratos) no capturados en el estudio. Futuros estudios deberían explorar rasgos fisiológicos adicionales en coordinación con factores del ambiente, para tener un mayor entendimiento de la interacción genotipo-ambiente en los procesos de senescencia.

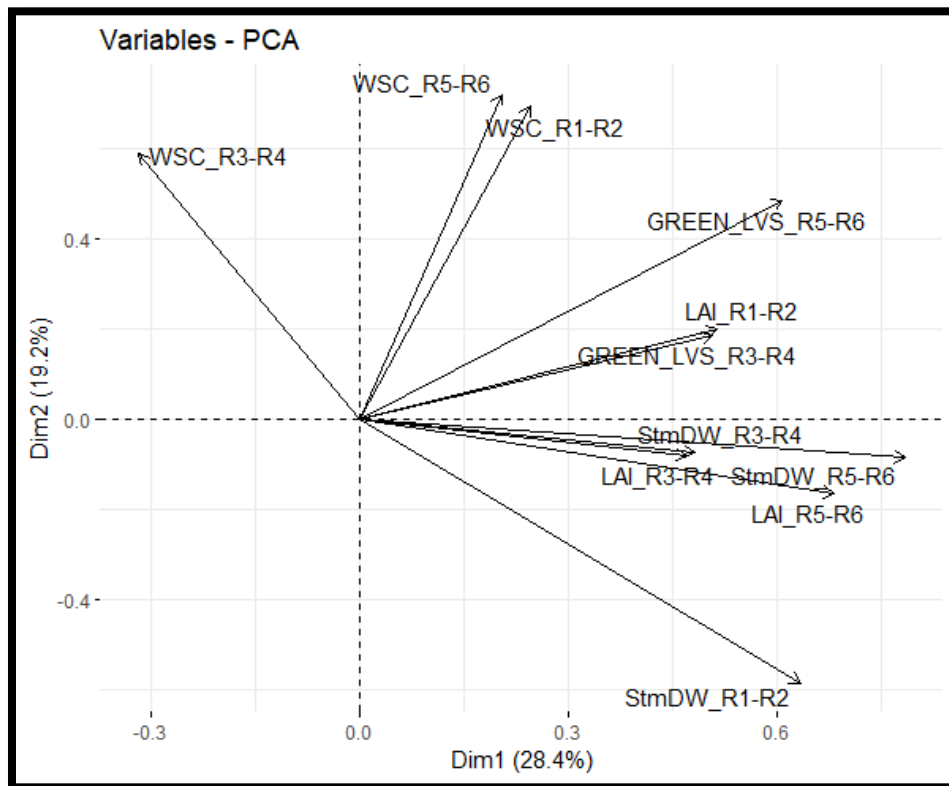


Figura 7. Análisis de componentes principales en maíz, agrupando las variables de WSC: contenido de carbohidratos, StmDW: biomasa de los tallos, LAI: índice de área foliar y GREEN_LVS: senescencia, las diferentes variables se encuentran establecidos en los estadios fenológicos.

En el análisis de PCA del cultivo de sorgo, los dos componentes principales representaron un 66% del total de la variabilidad. La dimensión o componente 1 explicó un 45% mientras que la dimensión 2 explicó un 21,1% (Figura 8).

En cuanto al análisis entre variables en sorgo, los carbohidratos en R1-R2 se observaron más relacionados a la variable de hojas verdes en R1-R2 y a la biomasa en los mismos estadios (Dimensión 1, Figura 8), caso contrario a lo sucedido en maíz. Esto evidenciaría que un mayor contenido de reservas de carbono en tallo alrededor de floración está relacionado con una mayor biomasa y numero de hojas fotosintéticamente activas.

Además, en cuanto a la dinámica de senescencia hacia final del ciclo, el número de hojas verdes R5-R6 se encontró moderadamente relacionada al contenido de carbohidratos en el mismo estadio fenológico (Dimensión 2, Figura 8). Estos resultados demuestran la relación entre el contenido de carbohidratos solubles en tallo y la senescencia foliar en sorgo, similar a lo observado en cereales de importancia agronómica (Sadras et al., 2019). Adicionalmente, el contraste en el rol de los carbohidratos entre maíz y sorgo en las variables de senescencia se corresponde con la mayor importancia de la removilización de reservas en la ganancia de rendimiento para sorgo en comparación a maíz (Demarco et al., 2023; Fernandez et al., 2021).

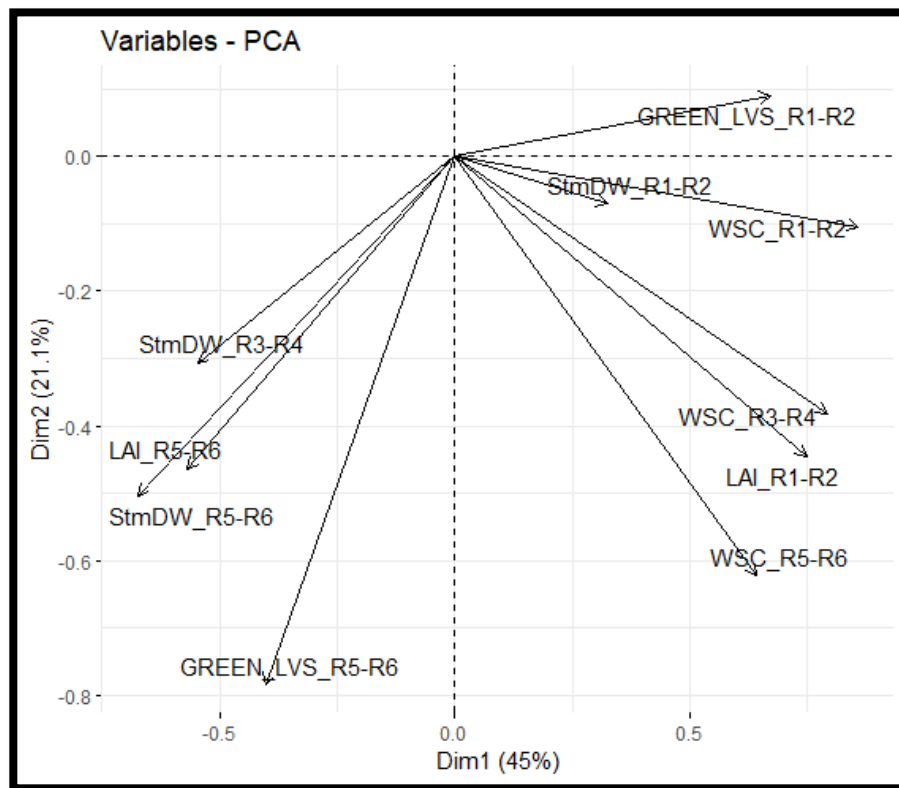


Figura 8. Análisis de componentes principales en el cultivo de sorgo, se trabajó sobre las variables principales de WSC; contenido de carbohidratos, StmDW: biomasa de tallo, LAI: índice de área foliar y GREEN_LVS: senescencia, todas las variables fueron agrupadas de acuerdo a su estadio fenológico.

5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran, en el caso del cultivo de maíz, el ligero aumento del contenido de carbohidratos que presentó el híbrido del año de liberación 2010 sobre el híbrido más antiguo MH1997, con un pico de mayor concentración en R4. A su vez, cuando se analizó el índice de área foliar se pudo observar que el híbrido moderno presentó valores superiores en el momento crítico de floración R1.

Por otro lado, en sorgo se demostró lo opuesto a lo ocurrido con el maíz, en donde el híbrido más antiguo fue superior en media estimada al híbrido moderno, en lo que respecta al contenido de carbohidratos. Sin embargo, sobre lo analizado en las variables de índice de área foliar y número de hojas verdes, no se presentaron diferencias significativas entre híbridos de sorgo.

Por otra parte, en la comparativa entre maíz y sorgo, en cuanto a los valores de índice de área foliar y número de hojas verdes, se pudo observar que el sorgo a nivel de madurez supera los valores obtenidos en maíz. Este suceso se puede explicar por la diferencia fisiológica que caracteriza al sorgo, el cual es manejado como cultivo anual siendo una especie perenne (Henzell and Jordan, 2009).

Asimismo, a través de los análisis de componentes principales en ambos cultivos, se demostró que para el caso del maíz el contenido de carbohidratos y la senescencia no presentaron correlación. En el sorgo se observó una leve relación entre las variables de carbohidratos y el número de hojas verdes. Sin embargo, contrario a lo establecido en la hipótesis general del trabajo, se determinó que para ambos cultivos existe la posibilidad de que otras variables expresen con mayor exactitud la relación entre senescencia y los cambios en el contenido de carbohidratos.

A partir de este proyecto de investigación se buscó contribuir con la presentación de materiales y datos para un posible trabajo de selección y mejoramiento genético, demostrando junto a otras investigaciones (Sadras et al., 2019), la relevancia de poseer datos del contenido de carbohidratos (Daynard et al., 1969).

Sumado a ello, existen diversos manejos posibles y que no se tuvieron en cuenta al momento de realizar esta investigación, como por ejemplo variaciones en las fertilizaciones, evaluaciones con un alto déficit hídrico, o la posibilidad de utilización de materiales genéticos de distinto origen (por ejemplo, Argentina). Futuros trabajos son necesarios para evaluar estas condiciones, y se considera que continuar con este tipo de investigaciones podría resultar ventajoso, a fin de contribuir con información de la relación del contenido de carbohidratos y su comparativa con otras variables.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., Walker, S., 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software* 67, 1–48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Daynard, T.B., Tanner, J.W., Hume, D.J., 1969. Contribution of Stalk Soluble Carbohydrates to Grain Yield in Corn (*Zea mays* L.)1. *Crop Science* 9, 831. <https://doi.org/10.2135/cropsci1969.0011183X000900060050x>
- Demarco, P.A., Mayor, L., Rotundo, J.L., Prasad, P.V.V., Morris, G.P., Fernandez, J.A., Tamagno, S., Hammer, G., Messina, C.D., Ciampitti, I.A., 2023. Retrospective study in U.S. commercial sorghum breeding: II. Physiological changes associated to yield gain. *Crop Science* 63, 867–878. <https://doi.org/10.1002/csc2.20845>
- Dreccer, M.F., Chapman, Scott.C., Rattey, A.R., Neal, J., Song, Y., Christopher, J. (Jack) T., Reynolds, M., 2013. Developmental and growth controls of tillering and water-soluble carbohydrate accumulation in contrasting wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes: can we dissect them? *Journal of Experimental Botany* 64, 143–160. <https://doi.org/10.1093/jxb/err313>
- Duvick, D.N., 2005. Genetic progress in yield of United States maize (*Zea mays* L.). *Maydica* 50, 193–202.
- FAO, 2021. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT Statistical Database. [Rome]. [WWW Document]. URL www.fao.org/faostat (accessed 10.15.11).
- Fernandez, J.A., Messina, C.D., Rotundo, J.L., Ciampitti, I.A., 2021. Integrating nitrogen and water-soluble carbohydrates dynamics in maize: A comparison of hybrids from different decades. *Crop Science* 61, 1360–1373. <https://doi.org/10.1002/csc2.20338>
- Fernandez, J.A., Nippert, J.B., Prasad, P.V.V., Messina, C.D., Ciampitti, I.A., 2022. Post-silking ¹⁵N labelling reveals an enhanced nitrogen allocation to leaves in modern maize (*Zea mays*) genotypes. *Journal of Plant Physiology* 268, 153577. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153577>
- Galicia, L., Nurit, E., Rosales, A., Palacios-Rojas, N., 2009. Laboratory protocols 2008: Maize nutrition quality and plant tissue analysis laboratory. CIMMYT, Mexico, DF.
- Gentinetta, E., Ceppl, D., Lepori, C., Perico, G., Motto, M., Salamini, F., 1986. A Major Gene for Delayed Senescence in Maize. Pattern of Photosynthates Accumulation and Inheritance. *Plant Breeding* 97, 193–203. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1986.tb01053.x>
- Gizzi, G., Gambin, B.L., 2016. Eco-physiological changes in sorghum hybrids released in Argentina over the last 30 years. *Field Crops Research* 188, 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2016.01.010>
- Henzell, R.G., Jordan, D.R., 2009. Grain Sorghum, in: Carena, M.J. (Ed.), *Cereals, Handbook of Plant Breeding*. Springer US, New York, NY, pp. 183–197. https://doi.org/10.1007/978-0-387-72297-9_5
- Hothorn, T., Bretz, F., Westfall, P., 2008. Simultaneous Inference in General Parametric Models. *Biometrical Journal* 50, 346–363. <https://doi.org/10.1002/bimj.200810425>

- Kassambara, A., Mundt, F., 2020. Factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses. R Package Version 1.0.7.
- Kumar, R., Bishop, E., Bridges, W.C., Tharayil, N., Sekhon, R.S., 2019. Sugar partitioning and source–sink interaction are key determinants of leaf senescence in maize. *Plant, Cell & Environment* 42, 2597–2611. <https://doi.org/10.1111/pce.13599>
- Lenth, R., Singmann, H., Love, J., Buerkner, P., Herve, M., 2019. Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. CRAN R. <https://doi.org/10.1080/00031305.1980.10483031>
- Mason, S.C., Kathol, D., Eskridge, K.M., Galusha, T.D., 2008. Yield increase has been more rapid for maize than for grain sorghum. *Crop Science* 48, 1560–1568. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.09.0529>
- OECD, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2021. OECD-FAO Agricultural Outlook 2021-2030, OECD-FAO Agricultural Outlook. OECD. <https://doi.org/10.1787/19428846-en>
- R Core Team, 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Ritchie, S.W., Hanway, J.J., Benson, G.O., 1997. How a corn plant develops. Spec. Rep. No. 48. Iowa State University of Science and Technology Cooperative Extension Service, Ames, IA.
- Robinson, D., 2014. broom: An R Package for Converting Statistical Analysis Objects Into Tidy Data Frames. <https://doi.org/10.48550/arXiv.1412.3565>
- RStudio Team, 2020. RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc. Boston, MA.
- Sadras, V.O., Mahadevan, M., Zwer, P.K., 2019. Stay-green associates with low water soluble carbohydrates at flowering in oat. *Field Crops Research* 230, 132–138. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2018.10.007>
- Schnyder, H., 1993. The role of carbohydrate storage and redistribution in the source-sink relations of wheat and barley during grain filling — a review. *New Phytologist* 123, 233–245. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1993.tb03731.x>
- Trachsel, S., Sun, D., SanVicente, F.M., Zheng, H., Atlin, G.N., Suarez, E.A., Babu, R., Zhang, X., 2016. Identification of QTL for Early Vigor and Stay-Green Conferring Tolerance to Drought in Two Connected Advanced Backcross Populations in Tropical Maize (*Zea mays* L.). *PLOS ONE* 11, e0149636. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149636>
- Vanderlip, R.L., Reeves, H.E., 1972. Growth stages of sorghum [*Sorghum bicolor* , (L.) Moench.] 1. *Agronomy Journal* 64, 13–16. <https://doi.org/10.2134/agronj1972.00021962006400010005x>
- Wickham, H., 2016. Data Analysis, in: Wickham, H. (Ed.), *Ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis, Use R!* Springer International Publishing, Cham, pp. 189–201. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4_9
- Wingler, A., Masclaux-Daubresse, C., Fischer, A.M., 2009. Sugars, senescence, and ageing in plants and heterotrophic organisms. *Journal of Experimental Botany* 60, 1063–1066. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp067>

Yemm, E.W., Willis, A.J., 1954. The Estimation of Carbohydrates in Plant Extracts by Anthrone. *Biochemical journal* 57, 508–514.

7. MATERIAL SUPLEMENTARIO 1



Imagen S1. Bolsas de muestras.



Imagen S2. Tubos falcon con muestras por entrar a baño maría.



Imagen S3. Preparado de solución de sacarosa.



Imagen S4. Tubos de ensayo en grilla con reacción colorimétrica.

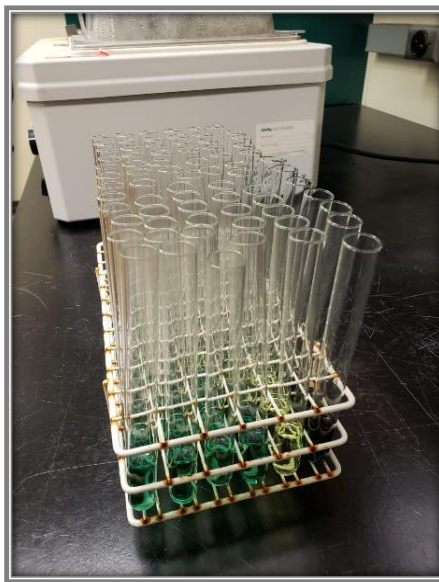


Imagen S5. Tubos de ensayo con reacción colorimétrica.



Imagen S6. Medición de dos muestras en el espectrofotómetro.

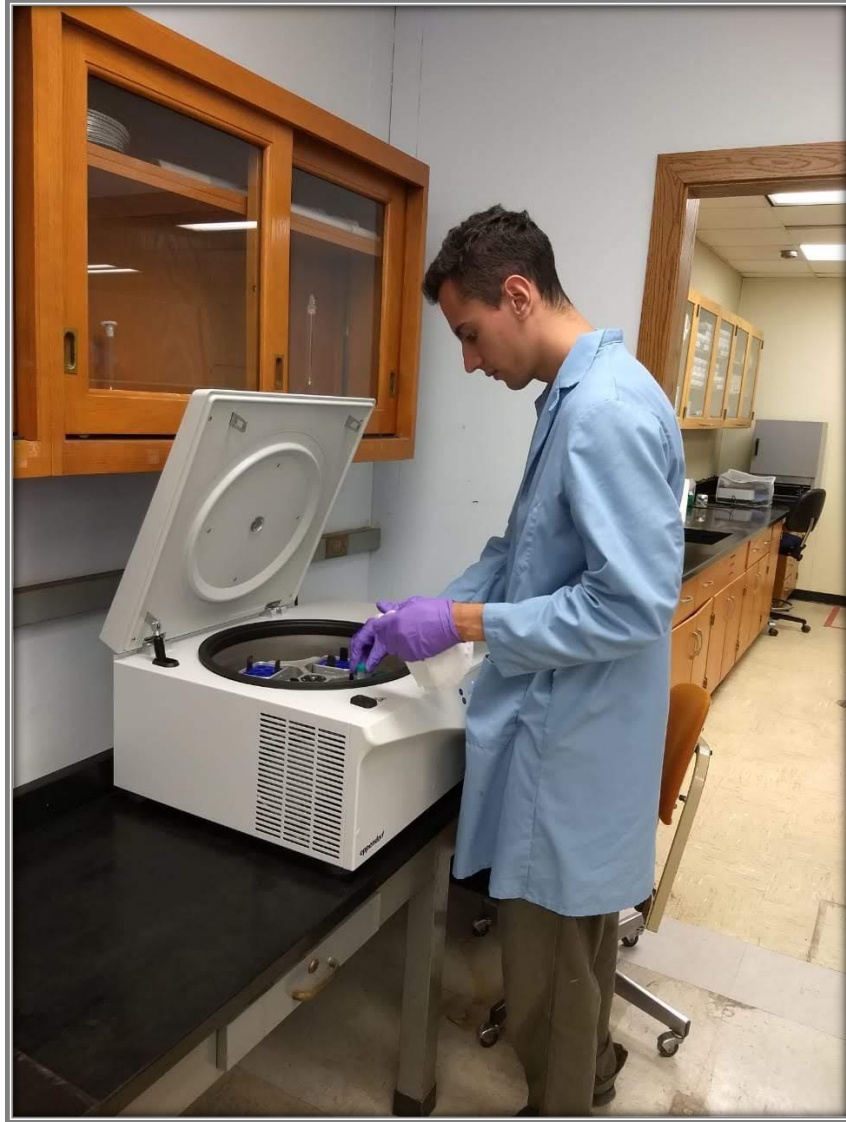


Imagen S7. Máquina centrifugadora.

Híbrido	Etapas de muestreo	Media estimada	Desvio estandar	Grado de libertad	Limite de confianza inferior	Limite de confianza superior	Agrupación
MH1991	R1	99,48	23,61	1,43	-53,28	252,23	a
MH2010	R1	103,24	23,61	1,43	-49,51	255,99	a
MH2010	R2	157,53	25,15	1,80	37,09	277,96	a
MH1991	R2	182,50	25,15	1,80	62,07	302,94	a
MH1991	R3	95,16	23,61	1,43	-57,59	247,91	a
MH2010	R3	119,71	23,61	1,43	-33,04	272,46	a
MH1991	R4	144,15	28,17	2,84	51,57	236,73	a
MH2010	R4	186,01	28,17	2,84	93,43	278,59	a
MH2010	R5	97,81	25,15	1,80	-22,62	218,25	a
MH1991	R5	104,60	25,15	1,80	-15,83	225,04	a
MH1991	R6	81,21	22,86	1,25	-103,37	265,79	a
MH2010	R6	82,71	22,82	1,24	-104,02	269,43	a
MH2010	V7	25,14	28,17	2,84	-67,44	117,72	a
MH1991	V7	25,31	28,17	2,84	-67,27	117,89	a

Tabla S1. Tabla confeccionada con los datos de las medias estimadas y las letras comparativas carbohidratos maíz.

Híbrido	Etapas de muestreo	Media estimada	Desvio estandar	Grado de libertad	Limite de confianza inferior	Limite de confianza superior	Agrupación
MH1991	R1	4,28	0,26	9,16	3,69	4,86	a
MH2010	R1	4,94	0,26	9,17	4,36	5,53	a
MH1991	R2	1,94	0,49	24,99	0,93	2,95	a
MH2010	R2	2,10	0,53	34,21	1,03	3,16	a
MH2010	R3	2,94	0,26	9,17	2,36	3,53	a
MH1991	R3	2,95	0,27	9,34	2,34	3,57	a
MH2010	R4	2,95	0,49	25,12	1,94	3,97	a
MH1991	R4	3,38	0,49	24,99	2,37	4,39	a
MH2010	R5	2,41	0,49	25,12	1,40	3,42	a
MH1991	R5	3,03	0,49	24,99	2,01	4,04	a
MH1991	R6	2,75	0,34	2,08	1,35	4,15	a
MH2010	R6	2,92	0,33	1,93	1,43	4,40	a
MH1991	V11	1,99	0,49	24,99	0,97	3,00	a
MH2010	V11	2,51	0,49	25,12	1,50	3,52	a
MH1991	V16	1,94	0,49	24,99	0,93	2,96	a
MH2010	V16	2,95	0,49	25,12	1,94	3,96	a
MH1991	V9	1,70	0,49	24,99	0,69	2,72	a
MH2010	V9	2,44	0,49	25,12	1,43	3,45	a

Tabla S2. Tabla confeccionada con los datos de las medias estimadas y las letras comparativas IAF maíz.

Hibrido	Etapas de muestreo	Media estimada	Desvio estandar	Grado de libertad	Limite de confianza inferior	Limite de confianza superior	Agrupación
MH2010	R2	10,10	0,75	2,37	7,29	12,91	a
MH1991	R2	10,80	0,75	2,37	7,99	13,60	a
MH2010	R3	9,13	0,75	2,37	6,33	11,94	a
MH1991	R3	9,87	0,75	2,37	7,06	12,67	a
MH2010	R4	9,26	0,67	1,52	5,27	13,26	a
MH1991	R4	9,92	0,67	1,52	5,93	13,92	a
MH1991	R5	7,92	0,66	1,43	3,62	12,21	a
MH2010	R5	8,16	0,66	1,43	3,87	12,46	a
MH1991	R6	2,85	0,66	1,43	-1,45	7,14	a
MH2010	R6	4,05	0,66	1,43	-0,25	8,35	b

Tabla S3. Tabla confeccionada con los datos de las medias estimadas y las letras comparativas del número de hojas verdes en maíz.

Hibrido	Etapas de muestreo	Media estimada	Desvio estandar	Grado de libertad	Limite de confianza inferior	Limite de confianza superior	Agrupación
SH2010	E2	10,33	39,63	18,76	-72,69	93,36	a
SH1997	E2	16,33	33,77	10,98	-58,02	90,67	a
SH2010	E3	13,93	33,80	10,99	-60,49	88,34	a
SH1997	E3	17,60	33,77	10,98	-56,75	91,94	a
SH2010	E5	32,66	33,80	10,99	-41,75	107,07	a
SH1997	E5	39,08	33,77	10,98	-35,26	113,43	a
SH2010	E6	88,06	23,61	3,33	16,91	159,21	a
SH1997	E6	91,49	23,03	2,98	17,87	165,12	a
SH2010	E7	62,45	25,36	3,42	-12,88	137,79	a
SH1997	E7	69,39	25,32	3,42	-5,87	144,65	a
SH2010	E8	146,87	27,71	4,99	75,60	218,14	a
SH1997	E8	159,41	27,68	4,99	88,22	230,60	a
SH1997	E9	114,87	26,98	5,59	47,68	182,07	a
SH2010	E9	117,07	25,32	4,46	49,51	184,62	a
SH2010	FL	81,12	27,01	5,61	13,89	148,35	a
SH1997	FL	82,55	25,32	4,46	15,00	150,10	a

Tabla S4. Tabla confeccionada con los datos de las medias estimadas y letras comparativas carbohidratos sorgo.

Híbrido	Etapas de muestreo	Media estimada	Desvio estandar	Grado de libertad	Limite de confianza inferior	Limite de confianza superior	Agrupación
SH1997	E2	0,59	0,81	12,66	-1,16	2,35	a
SH2010	E2	0,73	0,81	12,66	-1,03	2,48	a
SH2010	E3	0,58	0,81	12,66	-1,17	2,34	a
SH1997	E3	0,67	0,81	12,66	-1,08	2,43	a
SH1997	E5	2,92	0,81	12,66	1,16	4,67	a
SH2010	E5	3,01	0,81	12,66	1,26	4,77	a
SH2010	E6	4,23	0,81	12,66	2,47	5,98	a
SH1997	E6	5,18	0,81	12,66	3,43	6,94	a
SH2010	E9	3,70	0,46	12,66	2,69	4,70	a
SH1997	E9	4,25	0,46	12,66	3,24	5,25	a
SH2010	FL	4,60	0,46	12,66	3,60	5,60	a
SH1997	FL	5,49	0,46	12,66	4,48	6,49	a

Tabla S5. Tabla confeccionada con los datos de las medias estimadas y las letras comparativas IAF Sorgo.

Híbrido	Etapas de muestreo	Media estimada	Desvio estandar	Grado de libertad	Limite de confianza inferior	Limite de confianza superior	Agrupación
SH1997	E2	1,86	0,70	11,65	0,33	3,38	a
SH2010	E2	1,86	0,82	18,48	0,13	3,58	a
SH2010	E3	3,62	0,70	11,65	2,10	5,14	a
SH1997	E3	3,96	0,70	11,65	2,43	5,48	a
SH2010	E5	6,86	0,70	11,65	5,33	8,38	a
SH1997	E5	7,19	0,70	11,65	5,67	8,71	a
SH1997	E6	9,96	0,70	11,65	8,43	11,48	a
SH2010	E6	10,19	0,70	11,65	8,67	11,71	a
SH2010	E9	8,00	0,45	5,86	6,88	9,12	a
SH1997	E9	8,23	0,45	5,86	7,11	9,35	a
SH1997	FL	10,87	0,45	5,86	9,75	11,99	a
SH2010	FL	10,95	0,45	5,86	9,83	12,07	a

Tabla S6. Tabla confeccionada con los datos de las medias estimadas y las letras comparativas del número de hojas verdes en sorgo.

8. MATERIAL SUPLEMENTARIO 2

Trabajo estadístico realizado en RStudio.

Bloques de códigos S1. Instalación de paquetes y análisis del contenido de carbohidratos en maíz.

```
library(tidyverse)

## Warning: package 'tidyverse' was built under R version 4.0.5

## -- Attaching packages ----- tidyv
erse 1.3.0 --

## v ggplot2 3.3.3      v purrr  0.3.4
## v tibble  3.0.3      v dplyr  1.0.3
## v tidyr   1.1.2      v stringr 1.4.0
## v readr   1.3.1      v forcats 0.5.0

## -- Conflicts ----- tidyverse_c
onflicts() --
## x dplyr::filter() masks stats::filter()
## x dplyr::lag()     masks stats::lag()

library(readxl)
library(openxlsx)
library(ggthemes)
library(lsmeans)

## Warning: package 'lsmeans' was built under R version 4.0.5

## Loading required package: emmeans

## The 'lsmeans' package is now basically a front end for 'emmeans'.
## Users are encouraged to switch the rest of the way.
## See help('transition') for more information, including how to
## convert old 'lsmeans' objects and scripts to work with 'emmeans'.

library(lme4)

## Loading required package: Matrix

##
## Attaching package: 'Matrix'
```

```

## The following objects are masked from 'package:tidyr':
##
##     expand, pack, unpack

library(emmeans)
library(multcomp)

## Loading required package: mvtnorm
## Loading required package: survival
## Loading required package: TH.data
## Loading required package: MASS

##
## Attaching package: 'MASS'

## The following object is masked from 'package:dplyr':
##
##     select

##
## Attaching package: 'TH.data'

## The following object is masked from 'package:MASS':
##
##     geyser

library(multcompView)

## Warning: package 'multcompView' was built under R version 4.0.5

load("C:/Users/axeln/OneDrive/Desktop/Tesis/Data.rda")

Data_WSCContenido <- Data %>%
  mutate(WSCcontenido = StmDW*WSC/1000) %>%
  drop_na(WSCcontenido) %>%
  filter(Cultivo == "Maiz") %>%
  mutate(Hybrid = if_else(Hybrid == "[P1197]", "MH2010", "MH1991")) %>%
  %
  mutate(Samp_date = as.character(Samp_date), Samp_Stage = case_when(S
amp_Stage == "GF" & Samp_date == "2018-07-05" ~ "R2",
                                Samp_Stage == "GF" & Samp_date == "201
8-08-09" ~ "R3",
                                Samp_Stage == "GF" & Samp_date == "201
8-08-16" ~ "R4",
                                Samp_Stage == "GF" & Samp_date == "201

```

```

8-08-22" ~ "R5",
Samp_Stage == "GF" & Samp_date == "201
8-09-05" ~ "R6",
Samp_Stage == "GF" & Samp_date == "201
8-09-06" ~ "R6",
TRUE ~ Samp_Stage))
m1 <- lmer(WSCcontenido ~ Hybrid + (1|Year/Strip), data = Data_WSCCont
enido)
## boundary (singular) fit: see ?isSingular
m2 <- lmer(WSCcontenido ~ Hybrid + Samp_Stage + (Hybrid:Samp_Stage) +
(1|Year/Strip), data = Data_WSCContenido)
medias_WSCContenido <- emmeans(m2, ~ Hybrid | Samp_Stage) %>% broom::ti
dy()

medias_WSCContenido <- cld(emmeans(m2, ~ Hybrid | Samp_Stage), alpha =
0.05, Letters = letters) %>%
  broom::tidy() %>%
  mutate(Samp_Stage = factor(Samp_Stage, levels = c("V7", "R1", "R2", "R3
", "R4", "R5", "R6")))

fig1 <- ggplot() +
  geom_bar(data = medias_WSCContenido, aes(x = Samp_Stage, y = estimat
e, fill = Hybrid), stat = "identity", position = "dodge", color="black
") +
  geom_errorbar(data = medias_WSCContenido, aes(x = Samp_Stage, ymin =
estimate, ymax = estimate+std.error, group = Hybrid), position = "dodg
e") +
  ylab("Contenido de carbohidratos (mg/gr)") + xlab("Momento de muestr
eo")
fig1

```

Bloques de códigos S2. Análisis del índice de área foliar en maíz.

```
Data_LAI <- Data %>%
  drop_na(LAI) %>%
  filter(Cultivo == "Maiz") %>%
  mutate(Hybrid = if_else(Hybrid == "[P1197]", "MH2010", "MH1991")) %>%
  mutate(Samp_date = as.character(Samp_date), Samp_Stage = case_when(
    Samp_Stage == "GF" & Samp_date == "2018-07-05" ~ "R2",
    Samp_Stage == "GF" & Samp_date == "2018-08-09" ~ "R3",
    Samp_Stage == "GF" & Samp_date == "2018-08-16" ~ "R4",
    Samp_Stage == "GF" & Samp_date == "2018-08-22" ~ "R5",
    Samp_Stage == "GF" & Samp_date == "2018-09-05" ~ "R6",
    Samp_Stage == "GF" & Samp_date == "2018-09-06" ~ "R6",
    TRUE ~ Samp_Stage))

Data_LAI <- drop_na(Data_LAI, LAI)
Data_LAI$LAI <- as.numeric(Data_LAI$LAI)

## Warning: NAs introducidos por coerción

mLAI <- lmer(LAI ~ Hybrid + Samp_Stage + (Hybrid:Samp_Stage) + (1|Year/Strip), data = Data_LAI)

## boundary (singular) fit: see ?isSingular

medias_LAI <- cld(emmeans(mLAI, ~ Hybrid | Samp_Stage), alpha = 0.05, Letters = letters) %>%
  broom::tidy() %>%
  mutate(Samp_Stage = factor(Samp_Stage, levels = c("V9", "V11", "V16", "R1", "R2", "R3", "R4", "R5", "R6")))

fig2 <- ggplot() +
  geom_bar(data = medias_LAI, aes(x = Samp_Stage, y = estimate, fill = Hybrid), stat = "identity", position = "dodge", color="black") +
  geom_errorbar(data = medias_LAI, aes(x = Samp_Stage, ymin = estimate, ymax = estimate+std.error, group = Hybrid), position = "dodge") +
  ylab("Índice de área foliar") + xlab("Momento de muestreo")

fig2
```

Bloques de códigos S3. Análisis del contenido de carbohidratos en sorgo.

```
Data_WSCSORGO <- Data %>%
  mutate(WSCcontenido = StmDW*WSC/1000) %>%
  drop_na(WSCcontenido) %>%
  filter(Cultivo == "Sorgo") %>%
  mutate(Samp_date = as.character(Samp_date), Samp_Stage = case_when(S
amp_Stage == "PAR1" ~ "E6",
                                Samp_Stage == "PAR2" ~ "E6",
                                Samp_Stage == "PAR3" ~ "E7",
                                Samp_Stage == "PAR4" ~ "E7",
                                Samp_Stage == "PAR5" ~ "E7",
                                Samp_Stage == "PAR6" ~ "E8",
                                Samp_Stage == "PAR7" ~ "E8",
                                Samp_Stage == "HV" ~ "E9",
                                Samp_Stage == "5-Lvs" ~ "E2",
                                Samp_Stage == "8-9 Lvs" ~ "E3",
                                Samp_Stage == "15DBF" ~ "E5",
                                Samp_Stage == "15DAF" ~ "E6",
                                Samp_Stage == "MAT" ~ "E9",
                                TRUE ~ Samp_Stage)) %>%
  mutate(Hybrid = as.character(Hybrid), Hybrid = case_when(Hybrid == "
1" ~ "SH1997",
                                Hybrid == "2" ~ "SH2010",
                                TRUE ~ Hybrid))

mWSCsorgo <- lmer(WSCcontenido ~ Hybrid + Samp_Stage + (Hybrid:Samp_St
age) + (1|Year/Plot), data = Data_WSCSORGO)

medias_WSCContenidoSorgo <- cld(emmeans(mWSCsorgo, ~ Hybrid | Samp_Sta
ge),alpha = 0.05, Letters = letters)%>%
  broom::tidy() %>%
  mutate(Samp_Stage = factor(Samp_Stage, levels = c("E2","E3","E5","FL
","E6","E7","E8","E9"))))

fig3 <- ggplot() +
  geom_bar(data = medias_WSCContenidoSorgo, aes(x = Samp_Stage, y = es
timate, fill = Hybrid), stat = "identity", position = "dodge", color="
black") +
  geom_errorbar(data = medias_WSCContenidoSorgo, aes(x = Samp_Stage, y
min = estimate, ymax = estimate+std.error, group = Hybrid), position =
"dodge") +
```

```
ylab("Contenido de carbohidratos (g/m2)") + xlab("Momento de muestreo")
```

fig3

Bloques de códigos S4. Análisis del índice de área foliar en sorgo.

```
Data_LAISORGO <- Data %>%
  drop_na(LAI) %>%
  filter(Cultivo == "Sorgo") %>%
  mutate(Samp_date = as.character(Samp_date), Samp_Stage = case_when(S
amp_Stage == "PAR1" ~ "E6",
                                Samp_Stage == "PAR2" ~ "E6",
                                Samp_Stage == "PAR3" ~ "E7",
                                Samp_Stage == "PAR4" ~ "E7",
                                Samp_Stage == "PAR5" ~ "E7",
                                Samp_Stage == "PAR6" ~ "E8",
                                Samp_Stage == "PAR7" ~ "E8",
                                Samp_Stage == "HV" ~ "E9",
                                Samp_Stage == "5-Lvs" ~ "E2",
                                Samp_Stage == "8-9 Lvs" ~ "E3",
                                Samp_Stage == "15DBF" ~ "E5",
                                Samp_Stage == "15DAF" ~ "E6",
                                Samp_Stage == "MAT" ~ "E9",
                                TRUE ~ Samp_Stage)) %>%
  mutate(Hybrid = as.character(Hybrid), Hybrid = case_when(Hybrid == "
1" ~ "SH1997",
                                Hybrid == "2" ~ "SH2010",
                                TRUE ~ Hybrid))
Data_LAISORGO <- drop_na(Data_LAISORGO, LAI)
Data_LAISORGO$LAI <- as.numeric(Data_LAISORGO$LAI)

mLAIsorgo <- lmer(LAI ~ Hybrid + Samp_Stage + (Hybrid:Samp_Stage) + (1
|Year/Plot), data = Data_LAISORGO)

## boundary (singular) fit: see ?isSingular

medias_LAIisorgo <- cld(emmeans(mLAIsorgo, ~ Hybrid | Samp_Stage), alpha
= 0.05, Letters = letters)%>%
  broom::tidy() %>%
  mutate(Samp_Stage = factor(Samp_Stage, levels = c("E2", "E3", "E5", "FL
", "E6", "E7", "E8", "E9")))

fig4 <- ggplot() +
  geom_bar(data = medias_LAIisorgo, aes(x = Samp_Stage, y = estimate, f
ill = Hybrid), stat = "identity", position = "dodge", color="black") +
  geom_errorbar(data = medias_LAIisorgo, aes(x = Samp_Stage, ymin = est
imate, ymax = estimate+std.error, group = Hybrid), position = "dodge")
+
  ylab("Índice de área foliar") + xlab("Momento de muestreo")
```

fig4

Bloques de códigos S5. Análisis del número de hojas verdes en sorgo.

```
Data_GLSorgo <- Data %>%
  drop_na(GREEN_LVS) %>%
  filter(Cultivo == "Sorgo") %>%
  mutate(Samp_date = as.character(Samp_date), Samp_Stage = case_when(S
amp_Stage == "PAR1" ~ "E6",
                                Samp_Stage == "PAR2" ~ "E6",
                                Samp_Stage == "PAR3" ~ "E7",
                                Samp_Stage == "PAR4" ~ "E7",
                                Samp_Stage == "PAR5" ~ "E7",
                                Samp_Stage == "PAR6" ~ "E8",
                                Samp_Stage == "PAR7" ~ "E8",
                                Samp_Stage == "HV" ~ "E9",
                                Samp_Stage == "5-Lvs" ~ "E2",
                                Samp_Stage == "8-9 Lvs" ~ "E3",
                                Samp_Stage == "15DBF" ~ "E5",
                                Samp_Stage == "15DAF" ~ "E6",
                                Samp_Stage == "MAT" ~ "E9",
                                TRUE ~ Samp_Stage)) %>%
  mutate(Hybrid = as.character(Hybrid), Hybrid = case_when(Hybrid == "
1" ~ "SH1997",
                                Hybrid == "2" ~ "SH2010",
                                TRUE ~ Hybrid))

MGLS <- lmer(GREEN_LVS ~ Hybrid + Samp_Stage + (Hybrid:Samp_Stage) + (
1|Year/Plot), data = Data_GLSorgo)

## boundary (singular) fit: see ?isSingular

Media_gls <- cld(emmeans(MGLS, ~ Hybrid | Samp_Stage), alpha = 0.05, Le
tters = letters)%>%
  broom::tidy() %>%
  mutate(Samp_Stage = factor(Samp_Stage, levels = c("E2", "E3", "E5", "FL
", "E6", "E7", "E8", "E9")))

fig6 <- ggplot() +
  geom_bar(data = Media_gls, aes(x = Samp_Stage, y = estimate, fill =
Hybrid), stat = "identity", position = "dodge", color="black") +
  geom_errorbar(data = Media_gls, aes(x = Samp_Stage, ymin = estimate,
ymax = estimate+std.error, group = Hybrid), position = "dodge") +
  ylab("Número de hojas verdes (hojas/planta)") + xlab("Momento de mue
streo")

fig6
```

Bloques de códigos S6. Análisis del número de hojas verdes en maíz.

```
Data_glm <- Data %>%
  drop_na(GREEN_LVS) %>%
  filter(Cultivo == "Maiz") %>%
  mutate(Hybrid = if_else(Hybrid == "[P1197]", "MH2010", "MH1991")) %>%
  mutate(Samp_date = as.character(Samp_date), Samp_Stage = case_when(
    Samp_date == "2017-08-08" ~ "R4",
    Samp_date == "2017-08-15" ~ "R4",
    Samp_date == "2017-08-18" ~ "R5",
    Samp_date == "2017-08-22" ~ "R5",
    Samp_date == "2017-08-25" ~ "R5",
    Samp_date == "2017-08-29" ~ "R6",
    Samp_date == "2017-09-01" ~ "R6",
    Samp_date == "2017-09-06" ~ "R6",
    Samp_date == "2018-07-11" ~ "R2",
    Samp_date == "2018-07-18" ~ "R3",
    Samp_date == "2018-07-24" ~ "R4",
    Samp_date == "2018-07-30" ~ "R5",
    Samp_date == "2018-08-03" ~ "R5",
    Samp_date == "2018-08-14" ~ "R6",
    Samp_date == "2018-08-28" ~ "R6",
    TRUE ~ Samp_Stage))

mglm <- lmer(GREEN_LVS ~ Hybrid + Samp_Stage + (Hybrid:Samp_Stage) + (
  1|Year/Strip), data = Data_glm)

Media_glm <- cld(emmeans(mglm, ~ Hybrid | Samp_Stage), alpha = 0.05, Letters = letters) %>%
  broom::tidy() %>%
  mutate(Samp_Stage = factor(Samp_Stage, levels = c("R2", "R3", "R4", "R5", "R6")))

fig7 <- ggplot() +
  geom_bar(data = Media_glm, aes(x = Samp_Stage, y = estimate, fill = Hybrid), stat = "identity", position = "dodge", color = "black") +
  geom_errorbar(data = Media_glm, aes(x = Samp_Stage, ymin = estimate, ymax = estimate + std.error, group = Hybrid), position = "dodge") +
  ylab("Número de hojas verdes (hojas/planta)") + xlab("Momento de muestreo")

fig7
```

Bloques de códigos S7. Análisis componentes principales en maíz.

```
DataPCA <- Data %>%
  filter(Cultivo == "Maiz") %>%
  mutate(Hybrid = if_else(Hybrid == "[P1197]", "MH2010", "MH1991")) %>%
  %
  mutate(Samp_date = as.character(Samp_date), Samp_Stage = case_when(S
amp_date == "2017-08-08" ~ "R4",
                                Samp_date == "2017-08-15" ~ "R4",
                                Samp_date == "2017-08-18" ~ "R5",
                                Samp_date == "2017-08-22" ~ "R5",
                                Samp_date == "2017-08-25" ~ "R5",
                                Samp_date == "2017-08-29" ~ "R6",
                                Samp_date == "2017-09-01" ~ "R6",
                                Samp_date == "2017-09-06" ~ "R6",
                                Samp_date == "2018-07-11" ~ "R2",
                                Samp_date == "2018-07-18" ~ "R3",
                                Samp_date == "2018-07-24" ~ "R4",
                                Samp_date == "2018-07-30" ~ "R5",
                                Samp_date == "2018-08-03" ~ "R5",
                                Samp_date == "2018-08-14" ~ "R6",
                                Samp_date == "2018-08-28" ~ "R6",
                                TRUE ~ Samp_Stage)) %>%
  mutate(Samp_date = as.character(Samp_date), Samp_Stage = case_when(S
amp_Stage == "GF" & Samp_date == "2018-07-05" ~ "R2",
                                Samp_Stage == "GF" & Samp_date == "201
8-08-09" ~ "R3",
                                Samp_Stage == "GF" & Samp_date == "201
8-08-16" ~ "R4",
                                Samp_Stage == "GF" & Samp_date == "201
8-08-22" ~ "R5",
                                Samp_Stage == "GF" & Samp_date == "201
8-09-05" ~ "R6",
                                Samp_Stage == "GF" & Samp_date == "201
8-09-06" ~ "R6",
                                TRUE ~ Samp_Stage),
  LAI = as.numeric(LAI)) %>%
  dplyr::select(Cultivo, Exp, Plot, Hybrid, Samp_Stage, GREEN_LVS, WSC
, StmDW, LAI) %>%
  mutate(Samp_Stage = case_when(Samp_Stage %in% c("R1","R2") ~ "R1-R2"
,
                                Samp_Stage %in% c("R3","R4") ~ "R3-R4"
,
                                Samp_Stage %in% c("R5","R6") ~ "R5-R6"
,

```

```

                                TRUE ~ Samp_Stage)) %>%
group_by(Cultivo, Exp, Plot, Hybrid, Samp_Stage) %>%
summarise_if(is.numeric, ~mean(., na.rm=T)) %>%
pivot_wider(names_from = Samp_Stage, values_from = c(GREEN_LVS, WSC,
StmDW, LAI)) %>%
dplyr::select_if(~ !any(is.na(.))) %>%
# Left_join(
#   Data_MAT %>%
#   mutate(Hybrid = if_else(Hybrid == "[P1197]", "MH2010", "MH1991"))
%>%
# dplyr::select(-Samp_stage)
# ) %>%
ungroup()

## Warning: Problem with `mutate()` input `LAI`.
## i NAs introducidos por coerción
## i Input `LAI` is `as.numeric(LAI)`.

DataPCA <- DataPCA %>% dplyr::select(-c(Cultivo, Exp, Plot, Hybrid))

library(factoextra)

## Warning: package 'factoextra' was built under R version 4.0.5

## Welcome! Want to learn more? See two factoextra-related books at ht
tps://goo.gl/ve3WBa

data_normalized <- scale(DataPCA)
data.pca <- princomp(data_normalized)
fviz_pca_var(data.pca, col.var = "black", repel = T)

## Registered S3 methods overwritten by 'car':
##   method                               from
##   influence.merMod                      lme4
##   cooks.distance.influence.merMod      lme4
##   dfbeta.influence.merMod              lme4
##   dfbetas.influence.merMod            lme4

```

Bloques de códigos S8. Análisis componentes principales en sorgo.

```
DataPCAsorgo <- Data %>%
  filter(Cultivo == "Sorgo") %>%
  mutate(Samp_date = as.character(Samp_date), Samp_Stage = case_when(S
amp_Stage == "PAR1" ~ "E6",
                                Samp_Stage == "PAR2" ~ "E6",
                                Samp_Stage == "PAR3" ~ "E7",
                                Samp_Stage == "PAR4" ~ "E7",
                                Samp_Stage == "PAR5" ~ "E7",
                                Samp_Stage == "PAR6" ~ "E8",
                                Samp_Stage == "PAR7" ~ "E8",
                                Samp_Stage == "HV" ~ "E9",
                                Samp_Stage == "5-Lvs" ~ "E2",
                                Samp_Stage == "8-9 Lvs" ~ "E3",
                                Samp_Stage == "15DBF" ~ "E5",
                                Samp_Stage == "15DAF" ~ "E6",
                                Samp_Stage == "MAT" ~ "E9",
                                TRUE ~ Samp_Stage)) %>%
  mutate(Hybrid = as.character(Hybrid), Hybrid = case_when(Hybrid == "
1" ~ "SH1997",
                                Hybrid == "2" ~ "SH2010",
                                TRUE ~ Hybrid),
          LAI = as.numeric(LAI)) %>%
  dplyr::select(Cultivo, Exp, Plot, Hybrid, Samp_Stage, GREEN_LVS, WSC
, StmDW, LAI) %>%
  mutate(Samp_Stage = case_when(Samp_Stage %in% c("FL", "E5") ~ "R1-R2"
,
                                Samp_Stage %in% c("E6", "E7") ~ "R3-R4"
,
                                Samp_Stage %in% c("E8", "E9") ~ "R5-R6"
,
                                TRUE ~ Samp_Stage)) %>%
  group_by(Cultivo, Exp, Plot, Hybrid, Samp_Stage) %>%
  summarise_if(is.numeric, ~mean(., na.rm=T)) %>%
  pivot_wider(names_from = Samp_Stage, values_from = c(GREEN_LVS, WSC,
StmDW, LAI)) %>%
  dplyr::select_if(~ !any(is.na(.))) %>%
  ungroup()

DataPCAsorgo <- DataPCAsorgo %>% dplyr::select(-c(Cultivo, Exp, Plot,
Hybrid))

data_normalized <- scale(DataPCAsorgo)
```

```
data.pca <- princomp(data_normalized)
fviz_pca_var(data.pca, col.var = "black", repel = T)
```